



Afonso José Nunes Jacinto

Licenciado em Química Aplicada

Cápsulas de Coordenação Auto-Montadas para Encapsulação e Detecção de Poluentes Farmacêuticos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Vitor João Salgueiro Rosa, Investigador, FCT-UNL

Co-orientador: Nuno Miguel Jesuino Basílio, Investigador, FCT-UNL

Júri:

Presidente: [Paula Cristina de Sério Branco]

Arguentes: [Elisabete de Jesus Oliveira Marques]

Vogais: [Elisabete de Jesus Oliveira Marques]
[Vitor João Salgueiro Rosa]



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Dezembro, 2020

LOMBADA

2020

Cápsulas de Coordenação Auto-Montadas para Encapsulação e Detecção de Poluentes Farmacêuticos

Afonso Jacinto



[Cápsulas de Coordenação Auto-Montadas para Encapsulação e Deteção de Poluentes Farmacêuticos]

Copyright © [Afonso José Nunes Jacinto], Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Concluído este trabalho quero agradecer a todos os envolvidos pelo contributo prestado, pois sem eles nada do que foi feito seria possível.

Um primeiro obrigado aos meus dois orientadores da dissertação de mestrado, o Doutor Vitor Rosa e o Doutor Nuno Basílio por me terem aceitado como aluno, pelos conhecimentos transmitidos e disponibilidade prestada no decorrer deste trabalho.

Findados 5 anos como aluno da Faculdade de Ciências e Tecnologia, da Universidade Nova de Lisboa não poderia estar mais grato e seguro de que fiz a melhor escolha ao ter nela ingressado. Foi-me proporcionado o melhor ambiente e condições para o meu percurso universitário.

Aos meus colegas de curso, com que me cruzei nos últimos 5 anos, obrigado pelos momentos, memórias e boa companhia que mantivemos, tornando-os inesquecíveis.

A todo o pessoal que trabalha, que já não se encontra lá e alunos, dos laboratórios 406, 408, 410 e 412, pela ajuda nas mais variadas situações de dúvidas e apreensão, e por todo o equipamento disponibilizado.

A todos os meus amigos que acreditam em mim, e me estão sempre a apoiar nos bons e maus momentos, um obrigado pois eles são muitos importantes na minha vida

Obrigado a toda a minha família, pelo orgulho que sentem, em ter terminado mais uma fase na minha vida, e a confiança que depositam em mim para continuar em frente

Um muito especial à minha mãe e ao meu pai pois desde o primeiro dia, sempre lá estiveram e sem eles nada disto seria possível. Obrigado pela oportunidade, pelo carinho, por tudo o que me foi dado e proporcionado para ser quem hoje sou.

Resumo

A contaminação das águas é um problema recorrente. Vários estudos demonstram que diferentes contaminantes, como os antibióticos e anti-inflamatórios, ficam presentes na água, mesmo após esta ter passado pelos diversos processos de tratamento das Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR). Pela grande importância que a água tem para todos os seres vivos que habitam a Terra e o seu difícil acesso, é indispensável usá-la e reutilizá-la da melhor maneira possível. Com o intuito de detetar, quantificar e eliminar os contaminantes com mais eficácia, têm vindo a ser feitos estudos com cápsulas de coordenação auto-montadas. Neste trabalho foi sintetizada uma cápsula previamente descrita por Fujita onde 6 metais de Paládio (II) e 4 ligandos orgânicos formam uma estrutura octaédrica com uma cavidade no seu interior.

Partiu-se de PdCl_2 e N,N,N',N'-Tetrametiletilenodiamina (tmeda), obtendo-se o precursor de paládio pretendido, $\text{Pd}(\text{tmeda})(\text{NO}_3)_2$ (**2**). Para a síntese do ligando, Tris(4-Piridil)-s-Triazina, (Py_3T) (**3**) reagiu-se 4-cianopiridina com hidróxido de sódio (NaOH). A cápsula de coordenação Pd_6L_4 pode ser obtida diretamente através da reação dos reagentes **2** e **3** em água. Investigou-se o potencial desta cápsula para formar complexos de inclusão com diversos corantes.

Com base na supressão de fluorescência observada mediante a encapsulação do fluoróforo, desenvolveu-se um sensor supramolecular para a deteção de fármacos baseado num mecanismo de complexação competitiva. Este mecanismo baseia-se na substituição do corante pelo analito no interior da cápsula e consequente regeneração do sinal de fluorescência após libertação do primeiro no seio da solução. Explorou-se o mecanismo para testar a encapsulação de vários poluentes farmacêuticos, tais como ibuprofeno, naproxeno e penicilina. Foram feitas titulações por espectroscopia de ultravioleta-visível, fluorescência e ressonância magnética nuclear confirmando-se a encapsulação do ibuprofeno pelo sensor supramolecular, com os corantes fluoresceína, eosina Y ou eritrosina B.

Palavras-chave: Contaminação das Águas, Cápsulas de Coordenação, Auto-montagem, Sensor Supramolecular, Poluentes Farmacêuticos

Abstract

Water contamination has been a recurring problem. Several reports show contaminants, such as antibiotics and anti-inflammatories, still being in the water that has been through the numerous processes in a Wastewater Treatment Plant. Being the water a very important resource for all the living creatures on Earth, and its increasingly difficult accessibility, it is essential to use and reuse it in the best possible manner. In order to detect, quantify and eliminate the contaminants efficiently, there have been studies with self-assembled coordination cages. In this project a cage previously synthesized by Fujita, in which 6 Palladium (II) molecules bind to 4 organic ligands to form an octahedral structure with a hollow cavity inside, will be evaluated as a potential supramolecular sensor.

The synthesis started from PdCl_2 and N,N,N',N' -Tetramethylethylenediamine (tmeda), obtaining the desired molecule, $\text{Pd}(\text{tmeda})(\text{NO}_3)_2$ (**2**). To synthesize the ligand, Tris(4-Pyridil)-s-Triazine, (Py_3T) (**3**), 4-cyanopyridine reacted with sodium hydroxide (NaOH). The coordination cage Pd_6L_4 , can be obtained reacting **2** and **3** in water. The potential of this cage was studied to form inclusion complexes with different dyes.

Since there is fluorescence suppression when the fluorophore is encapsulated, a supramolecular sensor was developed to detect pharmaceutical compounds based on a competitive complexation mechanism. This mechanism is explained by the exchange between the dye and the analyte inside the cage and therefore regenerating the fluorescence signal after the release of the dye on the solution. It was used to explore the encapsulation of different pharmaceutical pollutants such as ibuprofen, naproxen and penicillin. Titrations were performed on ultraviolet-visible, fluorescence spectroscopy and nuclear magnetic resonance confirming the encapsulation of ibuprofen by the supramolecular sensor with fluorescein, eosin Y and erythrosin B dyes.

Keywords: Water Contamination, Coordination Cages, Self-Assembly, Supramolecular Sensor, Pharmaceutical Pollutants

Índice

RESUMO	I
ABSTRACT.....	III
ÍNDICE	V
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE FIGURAS EM ANEXO.....	XIII
LISTA DE ESQUEMAS	XV
LISTA DE TABELAS	XVII
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XIX
1 INTRODUÇÃO	1
1.1. A ÁGUA E O SEU TRATAMENTO NAS ETAR.....	1
1.1.1. Reservas de Água no Planeta.....	1
1.1.2. Tratamento de Águas Residuais na Atualidade.....	2
1.1.3. Detecção e Remoção de Poluentes Presentes na Água	3
1.2. CÁPSULAS DE COORDENAÇÃO	5
1.2.1. Propriedades e Exemplos de Compostos de Coordenação	5
1.2.1. MOFs e Aplicações Futuras	9
1.3. CORANTES	9
1.3.1. Designação e Propriedades dos Corantes.....	9
1.4. OBJETIVOS	12
2 MATERIAIS E MÉTODOS	13
2.1. REAGENTES E EQUIPAMENTOS.....	13
2.2. REAÇÕES REALIZADAS	14
2.2.1. Síntese de $Pd(tmeda)Cl_2$ (1) ³²	14
2.2.2. Síntese de $Pd(tmeda)(NO_3)_2$ (2) ³²	14
2.2.3. Síntese do ligando Tris(4-Piridil)-s-Triazina (Py ₃ T) (3) ³²	15
2.2.4. Síntese da cápsula de coordenação Pd_6L_4 ³²	16
2.2.5. Preparação das Soluções	16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19

3.1.	SÍNTESE DA CÁPSULA DE COORDENAÇÃO M_6L_4	19
3.2.	TESTES INICIAIS COM CORANTES.....	22
3.2.1.	Corante A: (E)-4-(4-(3-(4-(dietilamino)fenil)acrilol)fenoxi)buteno-1-sulfonato de sódio	23
3.2.2.	Corante B: Hidrogenossulfato de 10-(N,N-dietilamino)-3-hidroxi-5,6-dihidrobenzo[c]xant-12-ônio ^{55,56}	24
3.2.3.	Violeta de Pirocatecol	26
3.2.4.	Piranina.....	26
3.2.5.	Rodamina B.....	27
3.3.	TESTES COM CORANTES FLUORESCÉINA, EOSINA Y E ERITROSINA B.....	28
3.3.1.	Titulações Seguidas por UV-Visível	29
3.3.2.	Titulações Seguidas por Fluorescência	33
3.3.3.	Titulações Seguidas por 1H RMN	35
3.3.4.	Estudos com Fármacos	44
4	CONCLUSÕES	55
5	BIBLIOGRAFIA	57
6	ANEXOS	61

Lista de Figuras

Figura 1.1 - a) Percentagem de água salgada e doce no planeta Terra. b) Distribuição da água doce no planeta. ²	1
Figura 1.2 - Processos de tratamento de águas residuais numa ETAR. ⁵	2
Figura 1.3 - Os Cinco Sólidos Platónicos. A: Tetraedro; B: Cubo; C: Octaedro; D: Dodecaedro; E: Icosaedro. ²⁶	5
Figura 1.4 - Conformação da cage M_2L_4 descrita por Fujita. ³⁰	7
Figura 1.5 - Cápsula de Coordenação M_6L_4 , onde M é o metal de Paládio (II) e L o ligando Tris(4-Piridil)-s-Triazina ³²	7
Figura 1.6 - Estequiometria estudada entre a cápsula de coordenação M_6L_4 e uma molécula (G) encapsulada, variando apenas o seu diâmetro. ³⁴	8
Figura 1.7 - Diagramas de Cromaticidade do CIE 1931. a) Representação dos comprimentos de onda associados às cores no visível. O ponto N é onde se dá o acromatismo. O ponto A é uma cor escolhida e o ponto D o comprimento de onda associado. O ponto C é a cor complementar da cor representada pelo ponto B; b) Diagrama representado com a gama de cores do espectro do visível. ^{45,46}	11
Figura 3.1 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com o corante A (0,04 mM) em tampão fosfato (10 mM). O inset representa a variação de absorvância a 470nm em função da concentração de cage; (b) Ampliação na zona dos 350-550 nm da titulação em (a)......	24
Figura 3.2 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com corante B (0,04 mM) em tampão acetato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 590 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 450-650 nm da titulação em (a). (c) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com corante B (0,04 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 550 nm em função da variação da concentração de cage (d) Ampliação na zona dos 450-650 nm da titulação em (c)......	25

Figura 3.3 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Violeta de Pirocatecol (0,01 mM) em tampão acetato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 635 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 350-750 nm da titulação em (a).....26

Figura 3.4 - (a) Titulação em UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Piranina (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 500 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 300-600 nm da titulação em (a).....27

Figura 3.5 - (a) Titulação em UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Rodamina B (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 540 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 450-650 nm da titulação em (a).....27

Figura 3.6 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Fluoresceína (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 490 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 400-600 nm da titulação em (a).....29

Figura 3.7 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Eosina Y (0,01 mM) (b) Ampliação do espectro em (a) na zona dos 450-600 nm. (c) Primeira parte da titulação em (b) onde se observa um primeiro ponto isobéstico, $[\text{Pd}_6\text{L}_4] = 1,22 \text{ mM}$ (d) Segunda parte da titulação em (b). (e) Variação da absorvância a 503 nm em função da concentração de cage. (f) Variação da absorvância a 503 nm em função da concentração de cage representada em escala logarítmica de base 10.....30

Figura 3.8 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Eritrosina B (0,01 mM) (b) Ampliação do espectro em (a) na zona dos 450-600 nm. (c) Primeira parte da titulação em (b) onde se observa um primeiro ponto isobéstico, $[\text{Pd}_6\text{L}_4] = 1,13 \text{ mM}$ (d) Segunda parte da titulação em (b). (e) Variação da absorvância a 516 nm em função da concentração de cage. (f) Variação da absorvância a 516 nm em função da concentração de cage representada em escala logarítmica de base 10.....32

Figura 3.9 - Titulação seguida por fluorescência da Cage Pd_6L_4 com Fluoresceína (0,002 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{\text{exc}}=499 \text{ nm}$. Inset com a variação da intensidade a 514 nm em função da concentração de cage⁵⁷ (b). Ampliação do inset em (a) até 0,00125 mM de $[\text{Pd}_6\text{L}_4]$ e reta traçada com a sua respetiva equação e r^233

Figura 3.10 - (a) Titulação em fluorescência da Cage Pd ₆ L ₄ com Eosina Y (0,002 mM); $\lambda_{exc}=520$ nm. Inset com a variação da intensidade a 539 nm em função da concentração de cage ⁵⁷ (b) Ampliação até 0,0006 mM de [Pd ₆ L ₄] do inset do gráfico (a).	34
Figura 3.11 - (a) Titulação seguida por fluorescência da Cage Pd ₆ L ₄ com Eritrosina B (0,002 mM); $\lambda_{exc}=520$ nm. Inset com a variação da intensidade a 548 nm em função da concentração de cage ⁵⁷ (b) Ampliação até 0,0004 mM de [Pd ₆ L ₄] do inset do gráfico (a).	34
Figura 3.12 - Titulação seguida por ¹ H RMN da cage Pd ₆ L ₄ com Fluoresceína (500 MHz, D ₂ O), em tampão fosfato (10 mM), identificado o número de equivalentes de cage adicionados em cada espectro.....	35
Figura 3.13 - Espectro de ¹ H RMN do corante Fluoresceína, ampliado de 6,7-8 ppm (500 MHz, D ₂ O) ⁵⁹	36
Figura 3.14 - Ampliação na zona dos 4-10 ppm da titulação da Figura 3.12.	37
Figura 3.15 - Espectro de ¹ H RMN retirado de um artigo, com ampliação entre 8,5-9,6 ppm que representa os 24 picos correspondentes aos prótons do anel de piridil do ligando Py ₃ T da cage. ⁵⁸	38
Figura 3.16 - Titulação seguida por ¹ H RMN da cage Pd ₆ L ₄ com Eosina Y (500 MHz, D ₂ O), com o número de equivalentes de cage adicionados ao longo da titulação.....	39
Figura 3.17 - Espectro de ¹ H RMN do corante Eosina Y, ampliado de 7,1-7,9 ppm (500 MHz, D ₂ O) ⁵⁹	40
Figura 3.18 - Ampliação na zona dos 5-10 ppm da titulação da Figura 3.16.	41
Figura 3.19 - Titulação da cage Pd ₆ L ₄ com Eritrosina B (500 MHz, D ₂ O) com a quantidade de cage em cada espectro.	42
Figura 3.20 - Espectro de ¹ H RMN do corante Eritrosina B, ampliado de 6,7-8 ppm (500 MHz, D ₂ O)	43
Figura 3.21 - Ampliação na zona dos 5-10 ppm da titulação da Figura 3.19.	44
Figura 3.22 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Ibuprofeno com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,01 mM): Cage Pd ₆ L ₄ (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). (b) Ampliação na zona dos 400-600 nm da titulação em (a). (c) Variação da absorvância a 490 nm em função da concentração de cage.....	46
Figura 3.23 - (a) Titulação seguida por fluorescência do Ibuprofeno com complexo de inclusão Fluoresceína (0,002 mM): Cage Pd ₆ L ₄ (0,0015 mM) em tampão fosfato (10	

mM); $\lambda_{exc}=499$ nm. Inset que representa a variação da intensidade a 513 nm em função da concentração de cage. (b) Ampliação do inset em (a) até 0.0125 mM de $[Pd_6L_4]$ e reta traçada com a sua respectiva equação e r^247

Figura 3.24 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Naproxeno com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,1 μ M): Cage Pd_6L_4 (0,1 μ M) em tampão fosfato (10 mM). (b) Ampliação na zona dos 400-600nm da titulação em (a). (c) Variação da absorvância a 510 nm em função da concentração de cage.....48

Figura 3.25 - (a) Titulação seguida por fluorescência do Naproxeno com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,002 mM): Cage Pd_6L_4 (0,0015 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{exc}=499$ nm. (b) Variação da intensidade a 514 nm em função da concentração de cage.49

Figura 3.26 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Penicilina com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,01 mM): Cage Pd_6L_4 (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). (b) Ampliação na zona dos 400-600 nm da titulação em (a). (c) Variação da absorvância a 478 nm em função da concentração de cage50

Figura 3.27 - (a) Titulação seguida por fluorescência da Penicilina com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,002 mM): Cage Pd_6L_4 (0,0015 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{exc}=499$ nm. (b) Variação da intensidade a 514 nm em função da concentração de cage.51

Figura 3.28 - (a) Titulação seguida por fluorescência do Ibuprofeno (em solução de tampão fosfato) (0,6 mM) com o complexo de inclusão Eosina Y (0,001 mM): Cage Pd_6L_4 (0,001 mM); $\lambda_{exc}=520$ nm; Inset representativo da variação da intensidade a 538 nm em função da concentração de fármaco. (b) Ampliação do inset em (a) até concentrações de fármaco de 0,015 mM.....51

Figura 3.29 - (a) Titulação em fluorescência do complexo de inclusão Eritrosina B (0,35 μ M): Cage Pd_6L_4 (0,35 μ M) com Ibuprofeno (em solução de tampão fosfato) (0,6 mM); $\lambda_{exc}=520$ nm. (b) Variação da intensidade a 548 nm em função da concentração de fármaco.52

Figura 3.30 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Ibuprofeno com o complexo de inclusão Violeta de Pirocatecol (0,01 mM): Cage Pd_6L_4 (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset representa a variação da absorvância a 445 nm em função da concentração de fármaco. (b) Ampliação na zona dos 350-650 nm da titulação em (a).53

Figura 3.31 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Naproxeno com o complexo de inclusão Violeta de Pirocatecol (0,01 mM): Cage Pd_6L_4 (0,01 mM) em tampão fosfato (10

mM). Inset representa a variação da absorvância a 660 nm em função da concentração de fármaco. (b) Ampliação na zona dos 500-800 nm da titulação em (a).53

Lista de Figuras em Anexo

Figura A1 - Espectro de ^1H RMN do composto 1 (400 MHz, DMSO- d_6)	61
Figura A2 - Espectro de ^1H RMN do composto 2 (400 MHz, D_2O)	62
Figura A3 - Espectro de ^1H RMN do composto 3 (400 MHz, CDCl_3)	63
Figura A4 - Espectro de ^1H RMN do composto 4 (400 MHz, D_2O)	64
Figura A5 - Espectro UV-Vis da cage 4 (0,005 mM) em tampão fosfato (10 mM), em solvente H_2O . T=298,15 K	65
Figura A6 - Espectro de ^1H RMN do corante Fluoresceína (500 MHz, D_2O)	66
Figura A7 - Espectro de ^1H RMN do corante Eosina Y (500 MHz, D_2O).....	67
Figura A8 - Espectro de ^1H RMN do corante Eritrosina B (500 MHz, D_2O).....	68
Figura A9 – (a) Job Plot seguida por UV-Vis do complexo de inclusão Cage Pd_6L_4 (0,3 μM): Fluoresceína (0,3 μM). (b) Estequiometria obtida através da Job Plot.....	69

Lista de Esquemas

Esquema 1.1 - Estrutura molecular da mauveína B. ⁴⁴	10
Esquema 2.1 - Estrutura molecular de 1	14
Esquema 2.2 - Estrutura molecular de 2	14
Esquema 2.3 - Estrutura molecular de 3	15
Esquema 2.4 - Representação 3D da cage Pd ₆ L ₄ , onde L= 3	16
Esquema 3.1 - Esquema reacional para a formação de 1	19
Esquema 3.2 - Esquema reacional da formação do precursor 2	20
Esquema 3.3 - Esquema reacional da formação do ligando 3	21
Esquema 3.4 – Reação de formação da cápsula de coordenação M ₆ L ₄	21
Esquema 3.5 – Estruturas moleculares dos cinco corantes inicialmente testados. Corante A: (E)-4-(4-(3-(4-(dietilamino)fenil)acrilóil)fenoxi)buteno-1-sulfonato de sódio. Corante B: Hidrogenossulfato de 10-(N,N-dietilamino)-3-hidroxi-5,6-dihidrobenczo[c]xant-12-ónio. Corante C: Violeta de Pirocatecol ⁵² . Corante D: Piranina ⁵³ . Corante E: Rodamina B ⁵⁴	23
Esquema 3.6 - Estruturas moleculares dos corantes Fluoresceína, Eosina Y e Eritrosina B ⁵⁵	28
Esquema 3.7 - Estruturas moleculares dos fármacos em estudo neste trabalho. ⁶⁰	45

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 – Alguns exemplos de famílias de compostos presentes em águas residuais que são tratadas pelas ETAR retratando a quantidade de composto presente antes (afluente) e após tratamento (efluente).¹⁹ 4

Tabela 1.2 - Famílias de compostos em foco neste trabalho presentes em águas residuais indicando a quantidade de composto nelas contido antes (afluente) e após (efluente) serem tratadas pelas ETAR.¹⁹ 4

Tabela 1.3 – Intervalos de comprimento de onda, a cor absorvida em cada intervalo e a respetiva cor complementar. 11

Lista de Abreviaturas

^1H RMN - Espetroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Protão

CIE - *Commission Internationale de l'Eclairage*

d - Duplete

dd – Duplete de Dupletos

EDCs - *Endocrine-Disrupting Chemicals*

eq - Equivalente(s)

ETAR - Estação de Tratamento de Águas Residuais

J - Constante de Acoplamento

HOMO – *Highest Occupied Molecular Orbital*

LUMO - *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*

MOFs - *Metal-Organic Frameworks*

p.a. - Para Análise

pd – Pentupleto de Dupletos

PPCs - *Pharmaceutical and Personal Care Products*

ppm - Partes por Milhão

s - Singleto

SCCs – *Supramolecular Coordination Complexes*

tmeda - N,N,N',N'-Tetrametiletilenodiamina

UV-Vis - Ultravioleta-visível

Introdução

1.1. A Água e o seu Tratamento nas ETAR

1.1.1. Reservas de Água no Planeta

A água é um bem essencial para a vida não só humana, como de qualquer ser vivo presente no nosso planeta.¹ Esta existe em grande abundância podendo estar no estado líquido, sólido ou gasoso, mas nem toda ela é própria para consumo humano.

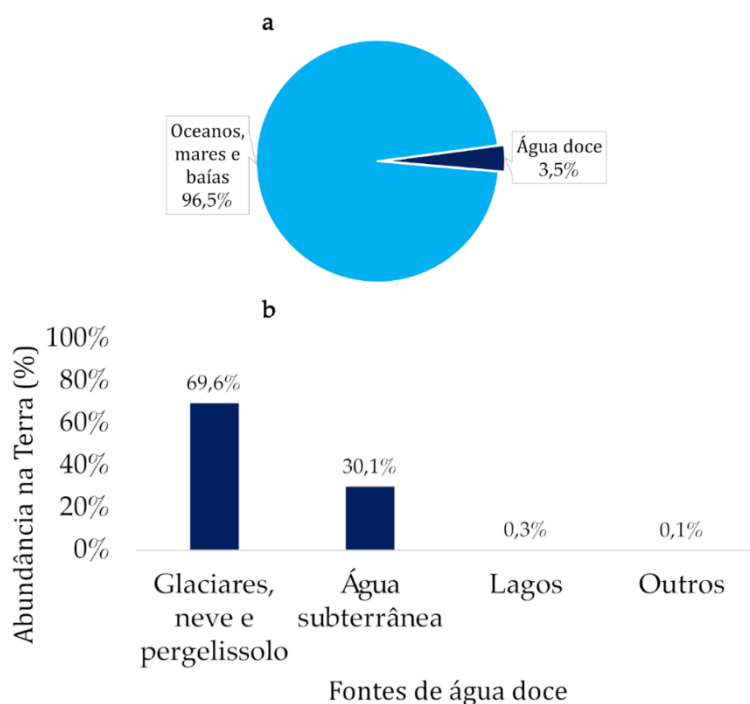


Figura 1.1 - a) Percentagem de água salgada e doce no planeta Terra. b) Distribuição da água doce no planeta.²

Como se observa pela Figura 1.1, a grande maioria da água é salgada sendo a doce significativamente menor em quantidade. Da pouca água doce disponível no planeta, mais de metade desta (69,6%) é inutilizável visto estar sob a forma de gelo. Sobram as reservas de água subterrânea, água presente em lagos e pântanos, água sob a forma de vapor (na atmosfera) e nos cursos de água.³

O crescimento exponencial da população verificado nos últimos anos e as alterações climáticas (levando a fraca ou inexistente precipitação, originando secas severas) faz com que a água seja um bem de crescente raridade. Atualmente, mais de metade da população mundial tem escassez de água, é importante preservar e tratar a água disponível da forma mais eficiente para o seu máximo aproveitamento.

1.1.2. Tratamento de Águas Residuais na Atualidade

Estações de Tratamento de Águas Residuais (ETAR) são infraestruturas onde, por uma combinação de variados processos são removidos os poluentes presentes nessas águas, de modo a estarem disponíveis para a sua reutilização.⁴ Atualmente estão presentes nas estações de tratamento processos convencionais de limpeza das águas que englobam procedimentos químicos, físicos e biológicos.

Na seguinte figura estão esquematizados os diferentes tratamentos a que as águas residuais são submetidas nas ETAR.

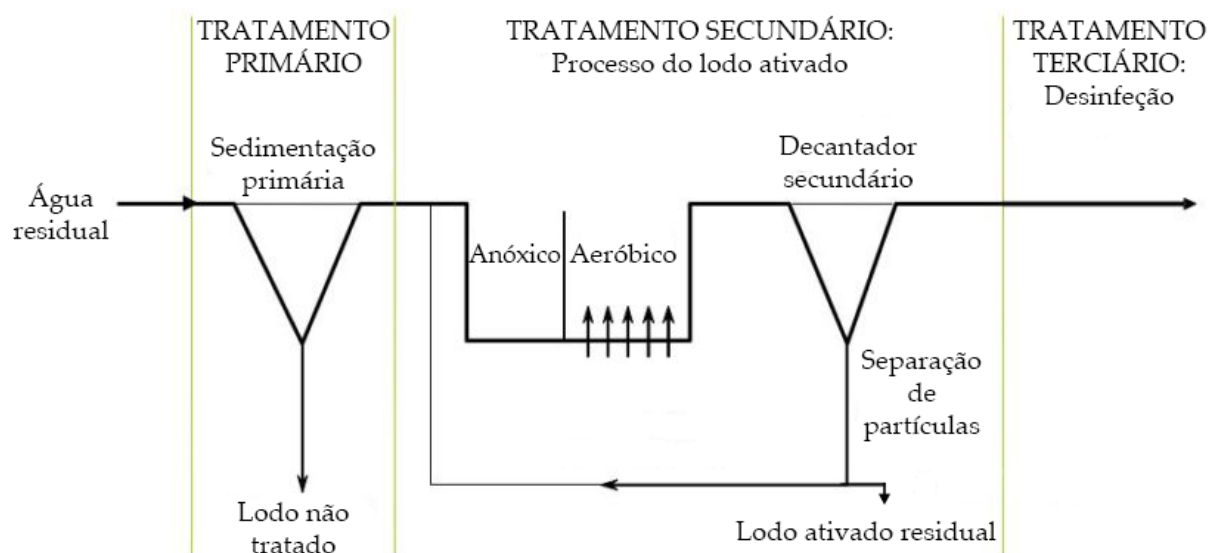


Figura 1.2 - Processos de tratamento de águas residuais numa ETAR.⁵

Ao chegarem às estações de tratamento, vindas de casas, fábricas, etc. as águas afluentes são submetidas ao que é chamado de pré-tratamento, para ser feita a sua

análise. Passam por um processo de gradagem, que separa as impurezas de maiores dimensões através de uma grade. Segue-se a tamisação: processo de remoção de sólidos mais pequenos que os anteriores, através de um tamizador.⁶ De seguida são feitos o desarenamento e o desengorduramento. Devido ao seu peso são sedimentadas as areias e depois retiradas por uma bomba. Já o segundo é destinado a remover as gorduras, que são levadas até à superfície da água. Após estes procedimentos é feito um tratamento primário onde as águas entram num decantador removendo os contaminantes sólidos. O tratamento secundário consiste num processo biológico que procura eliminar a matéria orgânica. Para isso são colocados microrganismos que se alimentam dessas matérias orgânicas. Com o aumento de microrganismos no reator é feita uma segunda decantação, desta vez para remover os microrganismos que se aglomeram formando flocos devido à sua reprodução. Caso o destino final da água seja para o consumo humano, quer seja em casas, indústrias, trabalhos agrícolas, é feita a desinfestação das águas com o auxílio de radiação ultravioleta no chamado tratamento terciário.⁷⁻⁹

1.1.3. Detecção e Remoção de Poluentes Presentes na Água

O avanço tecnológico proporcionou novas maneiras de estudar a ciência e a descoberta de novas metodologias aplicadas para os estudos científicos. Com estes avanços surgiram processos inovadores de síntese de compostos químicos e a descoberta de novos compostos.¹⁰

Ao longo dos anos as ETAR têm vindo sempre a melhorar e aprimorar a tecnologia nelas usada para lidar com novos produtos existentes nas águas em causa, e nos dias que correm os fármacos, produtos de higiene pessoal e químicos que alteram o sistema endócrino, *EDCs (Endocrine-Disrupting Chemicals)* compõem a lista de novos contaminantes de águas residuais já tratadas, águas à superfície e subterrâneas, como rios e lagos e ainda em água potável proveniente das ETAR¹¹.

Os contaminantes podem entrar no meio ambiente através de inúmeras maneiras de entre as quais estão a partir de efluentes de ETAR¹², de fossas sépticas¹³, hospitais¹⁴, lagoas anaeróbias¹⁵, depósitos subterrâneos de lixo doméstico e industrial¹⁶ ou indiretamente pelo processo de troca de água subterrânea - água de superfície.^{17,18}

Na seguinte tabela estão exemplificados algumas famílias de compostos que se podem encontrar em águas residuais que chegam às estações de tratamento, com intervalos de valores aproximados de quantidades de composto presentes na águas antes de serem tratadas (afluentes) e após serem tratadas (efluentes).¹⁹

Tabela 1.1 – Alguns exemplos de famílias de compostos presentes em águas residuais que são tratadas pelas ETAR retratando a quantidade de composto presente antes (afluente) e após tratamento (efluente).¹⁹

Família de Compostos	A fluentes (ng L ⁻¹)	Efluentes (ng L ⁻¹)	Percentagem de Remoção (%)
Antiepiléticos	1520-1900	670-2300	0-55
Reguladores lipídicos	1950-2100	760-1300	40-60
Bloqueadores beta	340-1530	140-800	36-58
Diuréticos	1800-9200	1180-3300	0-78

Pode-se observar que pelas percentagens apresentadas que a remoção destes não é eficiente, sendo insuficiente após passagem pela estação de tratamento ou seja, há uma grande quantidade ainda de potenciais EDCs nas águas. A Tabela 1.2, que se foca mais em famílias de compostos iguais ou semelhantes aos usados neste trabalho, mostra uma tendência semelhante àquela encontrada na Tabela 1.1.

Tabela 1.2 - Famílias de compostos em foco neste trabalho presentes em águas residuais indicando a quantidade de composto nelas contido antes (afluente) e após (efluente) serem tratadas pelas ETAR.¹⁹

Família	Compostos	A fluentes (ng L ⁻¹)	Efluentes (ng L ⁻¹)	Percentagem de Remoção (%)
Antibióticos	C laritromicina	344	150	56,4
	C iprofloxacina	620	234	62,25
	D oxiciclina	650	420	35,38
	E rytromicina	580	297	48,79
	M etronidazol	90	55	38,89
	N orfoxacina	115	53	45,74
	O floxacina	482	171	64,52
	R oxitromicina	780	472	39,42
	Sulfametoxazol	320	264	17,5
	Sulfapiridina	492	81	83,54
	Tetraciclina	48000	2375	95,05
	Trimetoprima	430	424	1,4
Analgésicos e anti-inflamatórios	Codeína	2860,5	1930	32,53
	Diclofenaco	1550	900	41,94
	Ibuprofeno	13482	3480	74,19
	Cetoprofeno	2650	800	69,81
	Cetorolaco	407	228	43,98
	Naproxeno	7800	2200	71,79

As fracas percentagens de remoção destes compostos nas águas que bebemos, nas águas de rios, mares e oceanos promovem a médio-longo prazo consequências na fauna e flora. Especificamente, no caso dos antibióticos propicia o aparecimento de estirpes bacterianas multirresistentes, e os analgésicos e anti-inflamatórios levam a uma habituação destes, quando ingeridos constantemente e sua eficácia diminuiu. Para evitar

os perigos que estes números representam têm vindo a ser estudadas e aprimoradas novas maneiras de detetar, quantificar e eliminar estes poluentes das águas.

1.2. Cápsulas de Coordenação

O interesse por cápsulas de coordenação auto-montadas (*self-assembled coordination cages*) tem aumentado ao longo dos últimos anos.²⁰ Estes compostos são estruturas moleculares tridimensionais (3D) feitas por um metal, mas nem sempre e moléculas orgânicas, muitas vezes descritas como M_xL_y , que devido às suas conformações formam uma espécie de jaula com uma cavidade oca no seu interior.^{21,22}

1.2.1. Propriedades e Exemplos de Compostos de Coordenação

A natureza tem impressionado pelos seus simples e ao mesmo tempo complexos métodos. A auto-montagem é um desses métodos que está presente nestes compostos de coordenação. Neste processo engloba na maioria das vezes ligações por pontes de hidrogénio, van der Waals e outras fracas ligações intra/intermoleculares.²³ Outra propriedade a relatar é a simetria presente nas cápsulas, e na natureza em geral. Grandes matemáticos, há vários anos atrás mostraram diversos sólidos complexos, mas todos eles apresentavam simetria. São chamados de sólidos platónicos: poliedros convexos de faces poligonais equivalentes entre si. Inicialmente caracterizados por Platão, filósofo da Grécia Antiga, este conjunto de sólidos contempla o: tetraedro, cubo, octaedro, dodecaedro e icosaedro, observando-se na figura abaixo a forma geométrica de cada um deles.^{24,25}

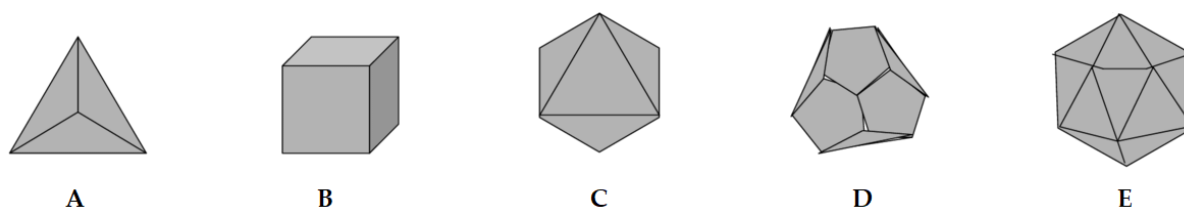


Figura 1.3 - Os Cinco Sólidos Platónicos. A: Tetraedro; B: Cubo; C: Octaedro; D: Dodecaedro; E: Icosaedro.²⁶

Em muitas das cápsulas de coordenação que são publicadas em trabalhos de pesquisa é possível encontrar estas estruturas, idênticas aos sólidos. Em todos eles há a presença de uma cavidade no seu interior, o que torna como o nome (cápsula de coordenação) indica, um bom método de encapsular moléculas.

Os compostos de coordenação podem ser agrupados em dois grandes grupos: complexos de coordenação supramoleculares, do inglês *supramolecular coordination*

complexes, SCCs e redes metalo-orgânicas, *metal-organic frameworks, MOFs*.²⁷ Nos primeiros são escolhidos os metais, que por auto-montagem se ligam aos ligandos que contêm diversos sítios de ligação.²⁸ Já as redes são vários polímeros de coordenação de caráter poroso compostos por centros metálicos ou aglomerados e *linkers* que se ligam através de uma ligação de coordenação metal-ligando.²⁰

Para a síntese destes compostos de coordenação há algumas estratégias diferentes sendo que todas elas assentam no pressuposto da auto-montagem. Exemplos são: ligação direcional, interação de simetrias, apainelamento de moléculas, inserção de moldes não-coordenantes, etc.^{20,27}. Com vários processos de montagem é de esperar existirem cápsulas de coordenação de variadas formas.

A meados de 1897 Hoffman descobriu que ao adicionar benzeno a um complexo de níquel, cianeto de níquel (II), $\text{Ni}(\text{CN})_2$ em solução de caráter básico originava uma rede de coordenação. Só meio século depois, em 1952, Powell conseguir caracterizar o composto sintetizado devido ao avanço tecnológico da espectroscopia de difração por raio-X, que na altura de Hoffman não era possível analisar²⁹. Esta apresentava uma estrutura plana, bidimensional (2D). Houve uma exploração de combinações com esta rede, até que se alterou o ligando cianeto por um outro de caráter orgânico, abrindo novas possibilidades de coordenação. A partir daqui despertou-se o interesse por este ramo da Química e foram-se descobrindo mais e melhores cápsulas de coordenação. A estrutura das *cages* vai ter em conta não só a geometria do complexo metálico e ligando mas também a razão Metal:Ligando, ou seja a estequiometria do complexo metálico e do ligando. Como exemplo desde M_2L_2 , M_3L_2 , M_4L_6 , M_6L_4 , M_6L_8 , entre outras.²⁷ São estes alguns exemplos de estruturas que se podem encontrar descritas. A estrutura M_2L_4 apresenta centro metálicos de geometria quadrangular planar, tais como os metais paládio (II), $\text{Pd}(\text{II})$ e platina (II), $\text{Pt}(\text{II})$. Esta cage foi primeira descrita por McMorran em 1998 onde usou um metal de paládio (II) e um ligando bidentado. Mais tarde Fujita utilizou esta *cage* e aplicando-lhe um ligando orgânico rígido obteve a estrutura abaixo representada^{30,31}.

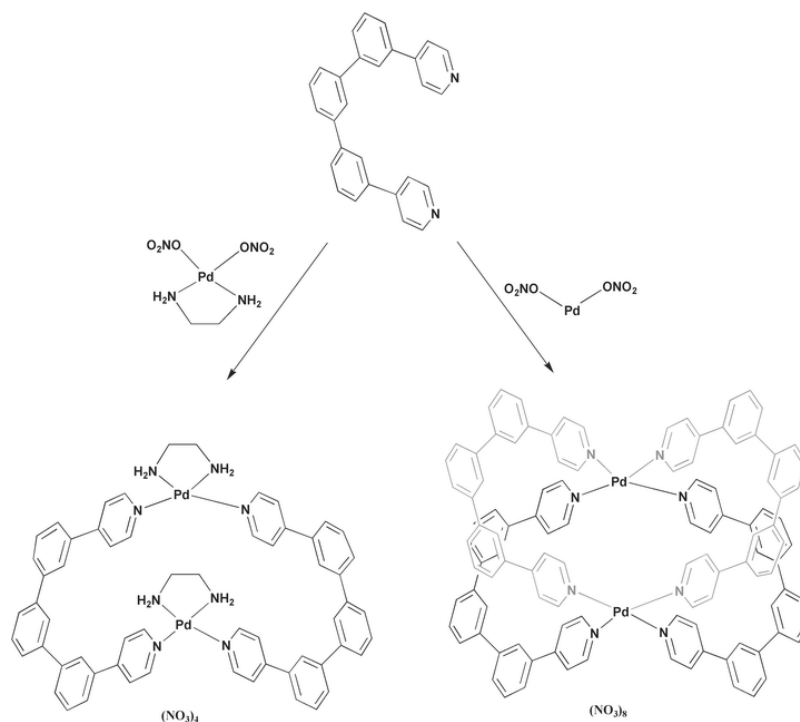


Figura 1.4 - Conformação da cage M_2L_4 descrita por Fujita.³⁰

Neste trabalho, como é possível ver nos capítulos seguintes, foi sintetizada uma cápsula de coordenação, que já foi publicada e caracterizada por Fujita. Esta cápsula, que simplificada é designada de M_6L_4 , onde M é o metal que neste caso é Paládio (II) e L o ligando, Tris(4-Piridil)-s-Triazina, Py_3T abreviando.

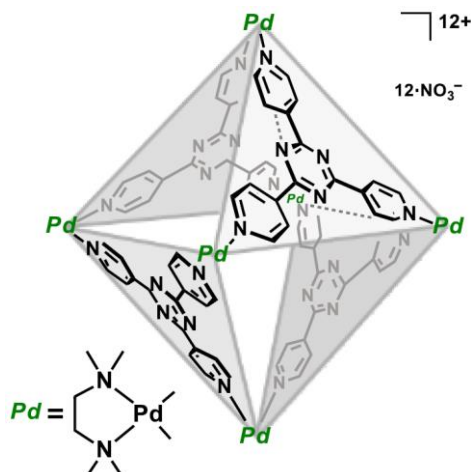


Figura 1.5 - Cápsula de Coordenação M_6L_4 , onde M é o metal de Paládio (II) e L o ligando Tris(4-Piridil)-s-Triazina³²

Um dos aspetos principais relacionado com esta cage, que apresenta diâmetro de 2 nm, é a facilidade de ser sintetizada, onde há a presença de ligações não-covalentes, tais como pontes de hidrogénio ou ligações dativas. Este processo torna a auto-montagem das

cápsulas mais simples e eficaz, mantendo a estrutura pretendida, baseada nos sólidos Platónicos, como se observa pela Figura 1.5.

A escolha desta cápsula para estudo neste trabalho recaiu principalmente por estar bastante bem descrita na literatura, fácil de sintetizar e ser solúvel em água, visto que o meio principal de trabalho é o aquoso. Descrito também na literatura está que o interior da cápsula de coordenação é hidrofóbico, e quando encapsulada uma molécula com grupos hidroxilo (OH) estes ficavam arrançados dentro da cápsula de modo que ficassem o mais longe possível do centro. Este é um ponto interessante visto que fármacos presentes na Tabela 1.2 apresentam o grupo hidroxilo. Para além de hidrofóbico, o interior é também eletrofílico³³.

Na Figura 1.6, retirada de um artigo científico publicado, estudou-se e determinou-se a estequiometria entre a cápsula de coordenação que vem sendo referida e uma molécula onde se variou o diâmetro, de modo a perceber quantas destas moléculas seriam possíveis encapsular na mesma cápsula.

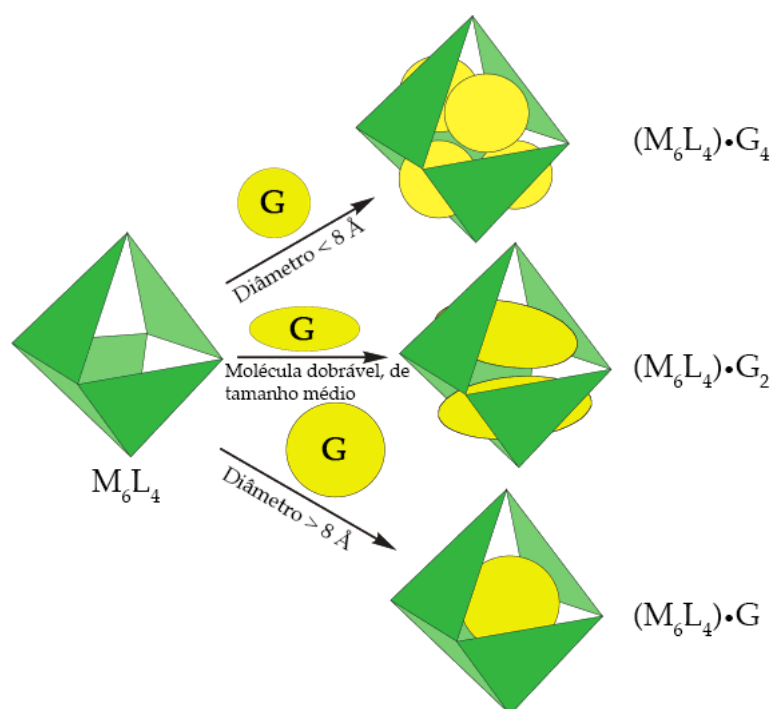


Figura 1.6 - Estequiometria estudada entre a cápsula de coordenação M_6L_4 e uma molécula (G) encapsulada, variando apenas o seu diâmetro.³⁴

Moléculas mais pequenas, que se classificaram como sendo de diâmetro inferior a 8 Å, conseguem ser encapsuladas quatro na mesma cápsula. Já as maiores, de diâmetro superior a 8 Å só uma é possível encapsular.

1.2.1. MOFs e Aplicações Futuras

Para uma possível aplicação dos sensores supramoleculares nas águas em foco, é necessário o auxílio de um utensílio de modo a atuar como filtro. Para que seja rentável, terão de estar a “atuar” em simultâneo várias cápsulas de coordenação, o que significa a criação de uma rede de cápsulas de coordenação, chamada de rede metalo-orgânica.

As MOFs (*Metal-Organic Frameworks*), ou Estruturas Metalo-orgânicas são estruturas compostas por iões metálicos e ligandos orgânicos a que se ligam os metais ganhando assim uma forma rígida, podendo ser mono, bi ou tridimensionais³⁵. Estas são altamente porosas, e com alta diversidade nas estruturas e propriedades tanto físicas como químicas. Como é possível se agregarem muitos iões metálicos bem como uma variedade de ligandos, as combinações possíveis para se formar as MOFs são variadas.

As *cages* usadas neste trabalho de investigação são formadas com o metal de paládio. Habitualmente as estruturas metalo-orgânicas são sensíveis à humidade, mas ao se fazerem MOFs com paládio ganham resistência a esta, podendo, e de facto foi esse o caso, as reações de formação destas estruturas serem feitas em meio aquoso³⁶.

É de interesse inicial a síntese de um sensor supramolecular que possa hospedar moléculas, onde o tamanho aceitado é objeto de estudo neste trabalho, sendo este sensor formado por uma cápsula de coordenação, juntamente com um corante. Esta interação hospedeiro-convidado deve-se às interações não-covalentes de entre as pontes de hidrogénio, interações iónicas e ligações π - π ³².

A síntese destas redes, é um grande ponto positivo desta química supramolecular, dependendo essencialmente do selecionamento prévio do metal e ligandos a serem usados. Moléculas orgânicas que apresentam átomos de azoto ou oxigénio são boas candidatas a criar a rede visto serem doadores de eletrões, fazendo a ponte perfeita com os metais das cápsulas de coordenação vizinhas³⁷.

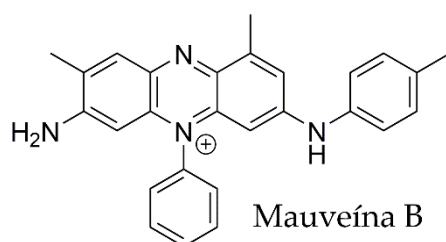
1.3. Corantes

1.3.1. Designação e Propriedades dos Corantes

Um corante é uma substância química que apresenta cor, e quando aplicado em solução, propaga a sua cor para outra substância³⁸. A classificação de corantes vai depender das suas propriedades químicas e modo de aplicação. Sendo a estrutura química uma dessas propriedades encontram-se corantes de variados grupos, tais como as

antraquinonas, azo, benzoquinonas, carbonil, cianinas, formazan, ftalocianinas, nitro, sulfúricos, entre outros³⁹. Se o assunto for de aplicação, como no caso dos têxteis, há corantes ácidos, básicos, catiónicos, dispersos, diretos, mordentes, reativos, *vat*, para nomear alguns⁴⁰.

Há muitos anos, quando se começaram a usar corantes na indústria têxtil, principalmente no tingimento das roupas da época, os corantes eram extraídos de fontes naturais, quer seja de animais ou plantas. Em 1856, a indústria dos corantes sintéticos emergiu com a mauveína. Foi o primeiro corante orgânico sintético a ser descoberto, por William Perkin⁴¹. A sua estrutura molecular apresenta-se no Esquema 1.1^{42,43}.



*Esquema 1.1 - Estrutura molecular da mauveína B.*⁴⁴

Curiosamente este corante foi descoberto acidentalmente, visto que na altura William Perkin tentada sintetizar o fármaco quinina, destinada à cura da malária. Ao oxidar a anilina, num meio contendo tolueno, observou um precipitado preto em que uma pouca percentagem desse precipitado era de cor roxa, que se veio a descobrir ser mauveína⁴³.

A cor de qualquer substância ou objeto deve-se ao facto de estes absorverem radiação eletromagnética. Isto só é possível pois estes compostos têm cromóforos, que são átomos responsáveis pela cor numa molécula. Ocorre a excitação de um eletrão quando este passa da orbital HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) para a LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Este processo requer a absorção de uma certa quantidade de energia. Quando este mesmo valor é libertado, o eletrão volta ao seu estado fundamental, e emite cor, onde se o valor da energia libertada for dentro do espetro do visível, a cor é visível ao olho humano.

Na Figura 1.7 está representado um diagrama publicado pelo CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*), a Comissão Internacional de Iluminação. Neste é possível, por interpretação do gráfico, estudar as cores absorvidas e suas respetivas cores complementares.

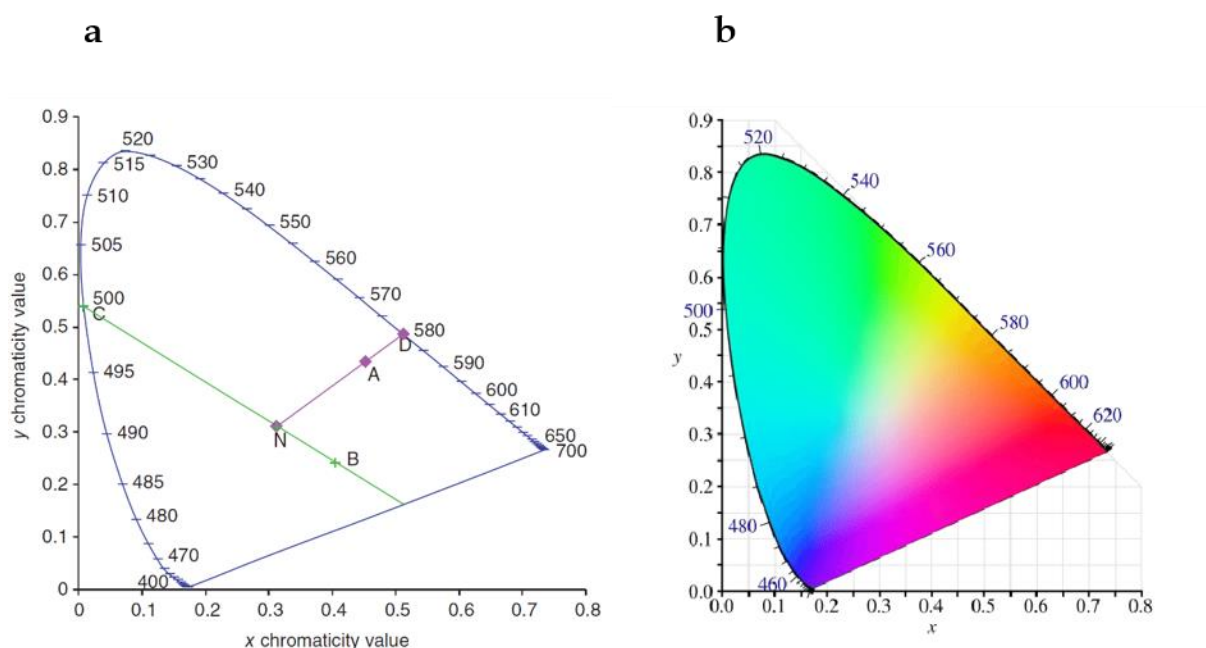


Figura 1.7 - Diagramas de Cromaticidade do CIE 1931. a) Representação dos comprimentos de onda associados às cores no visível. O ponto N é onde se dá o acromatismo. O ponto A é uma cor escolhida e o ponto D o comprimento de onda associado. O ponto C é a cor complementar da cor representada pelo ponto B; b) Diagrama representado com a gama de cores do espectro do visível.^{45,46}

Como exemplificado pelos gráficos acima, traçando uma linha reta que passe pelo ponto que simboliza a cor desejada e pelo ponto acromático N, obtém-se a cor complementar, do lado oposto do gráfico. Na Tabela 1.3 está um resumo que engloba as cores do espectro do visível, com comprimentos de onda associados e cores complementares destas.

Tabela 1.3 – Intervalos de comprimento de onda, a cor absorvida em cada intervalo e a respetiva cor complementar.

Intervalo de Comprimento de Onda, λ (nm)	Cor Absorvida	Cor Complementar (Observada)
380 - 435	Violeta	A marelo-esverdeado
435 - 480	Azul	A marelo
480 - 490	Azul-esverdeado	Laranja
490 - 500	Verde-azulado	Vermelho
500 - 560	Verde	Roxo-avermelhado
560 - 595	A marelo-esverdeado	Roxo
595 - 650	Laranja	Verde-azulado
650 - 780	Vermelho	Azul-esverdeado

De notar que estes intervalos de comprimento de onda descritos acima são resultado de uma aproximação, visto que o espectro visível é contínuo e não tem intervalos nele que indiquem o fim e início de uma cor em particular.

1.4. Objetivos

Neste trabalho o principal objetivo é criar um sensor supramolecular que consiga detetar, quantificar e eliminar fármacos poluentes presentes nas águas.

Entende-se por sensor supramolecular o mecanismo cápsula de coordenação - corante. No caso deste trabalho foram muitas vezes usados corantes fluorescentes, que se denominam por fluoróforos. Quando presente em solução, emite a sua cor associada e é visível. Conjugando-os com uma cápsula de coordenação, ocorre supressão deste fluoróforo e por consequente a sua cor. Ao se expor o sensor a um fármaco, ocorre o processo inverso. A *cage* liberta o fluoróforo, o fármaco entra na cavidade oca da cápsula e é restaurado o sinal de fluorescência. Os sensores podem ser divididos em duas categorias: por sensibilidade e por seletividade. No caso dos sensores por seletividade, detetam apenas um analito, onde por outro lado os de sensibilidade detetam vários analitos, por análises multidimensionais⁴⁷.

Para o desenvolvimento de um sensor supramolecular é importante encontrar um par cápsula de coordenação:corante eficaz. De modo a determinar a eficácia do sensor, é pretendido neste trabalho a caracterização por métodos espectroscópicos, que foram a espectrofotometria de UV-Visível, de fluorescência e ressonância magnética nuclear de próton. Há que ter em atenção a zona de comprimentos de onda no espectro de UV-Vis que o fluoróforo absorve e garantir que não existe sobreposição dos valores de absorvância com os da cápsula de coordenação. São poucos os trabalhos que relatam este método, que no futuro pretende estar a remover poluentes farmacêuticos das águas, por isso é essencial haver testes iniciais sobre bons corantes candidatos a se conjugarem com a *cage*.

Por fim, com o sensor supramolecular selecionado pretende-se determinar a sua sensibilidade e seletividade relativamente a fármacos, em meio aquoso.

Materiais e Métodos

2.1. Reagentes e Equipamentos

Os reagentes e solventes utilizados nas sínteses foram adquiridos na Alfa Aesar, Carlo Erba, Evonik Industries AG, Fluka, Fluorochem, LabChem, Panreac AppliChem, Sigma-Aldrich sendo que foram utilizados sem posterior purificação ou pós-processamento. Os corantes foram adquiridos na Alfa Aesar (Piranina e Violeta de Pirocatecol), Merck (Rodamina B), Sigma-Aldrich (Eritrosina B e Eosina Y). Os reagentes necessários para a preparação das soluções-tampão foram adquiridos na Panreac (Acetato de Sódio), Merck ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ e $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), Fluka (Ácido Acético). Os fármacos foram adquiridos na Alfa Aesar (Ibuprofeno e Penicilina G) e Sigma-Aldrich (Naproxeno)

As balanças utilizadas, por ordem decrescente de sensibilidade foram as seguintes: Sartorius (Balança Analítica de 5 casas decimais), Adam PW184 (Balança Analítica de 4 casas decimais), com erros associados de 0,0002 mg.

Para o auxílio das reações de síntese foram utilizados os aparelhos de ultrassons Branson 1510 e Büchi Rotavapor R-210.

Os espectros de ^1H RMN foram adquiridos a temperatura ambiente no espectrômetro Bruker AVANCE 400 (^1H , 400 MHz) e no espectrômetro Bruker AVANCE 500 (^1H , 500 MHz)

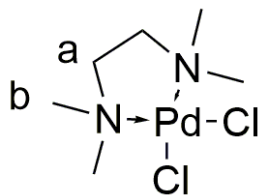
Os espectros de UV-Vis foram adquiridos pelos espectrofotômetros Shimadzu UV-2501PC e Agilent Cary 100 Bio UV-Vis utilizando intervalos de 200 a 800 nm.

O espectro de Fluorescência foi adquirido pelo espectrofluorímetro SPEX Fluorolog-3 Model FL3-22.

Todas as titulações feitas em UV-Vis e Fluorescência foram feitas em cuvetes de plástico com 1 cm de percurso ótico.

2.2. Reações Realizadas

2.2.1. Síntese de Pd(tmeda)Cl₂ (**1**)³²



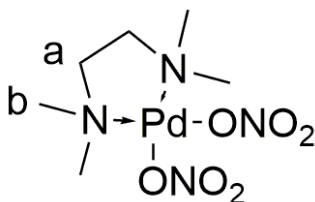
Esquema 2.1 - Estrutura molecular de **1**

Pesou-se 1 eq de PdCl₂ (0,499 g, 2,82 mmol) para um Schlenk sob atmosfera de árgon. Adicionou-se de seguida 10 mL de acetona p.a. e 1 eq de N,N,N',N'-Tetrametiletenodiamina (tmeda) (0,5 mL, 2,82 mmol) e por fim os restantes 10 mL de acetona, perfazendo 20 mL no total. Deixou-se a reação a agitar a temperatura ambiente, durante 24 horas.

O *work-up* consistiu na lavagem com 30 mL de água, acetona e éter dietílico, obtendo-se um pó acastanhado, após secagem. O rendimento foi de 77% (0,64 g).

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 2.72 (s, 4H, *Ha*) 2.64 (s, 12H, *Hb*) (Figura A1 em anexo)

2.2.2. Síntese de Pd(tmeda)(NO₃)₂ (**2**)³²

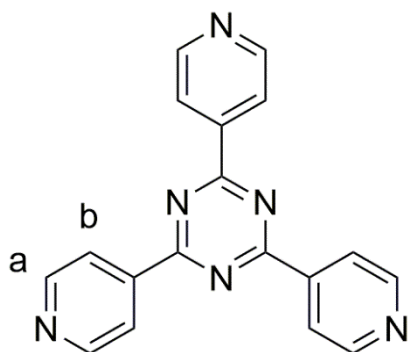


Esquema 2.2 - Estrutura molecular de **2**

Fez-se a seguinte reação com 1 eq de **1** (0,6 g, 2,05 mmol) e 2 eq de AgNO₃ (0,71 g, 4,18 mmol), ambos colocados num Schlenk. Após a adição de 60 mL de H₂O, ao abrigo da luz e em agitação constante deixou-se a reagir a temperatura ambiente durante a noite. Filtrou-se a solução amarela e evaporou-se no rotavapor. Obteve-se um pó esbranquiçado com rendimento de 97% (0,688 g).

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, D_2O) δ (ppm): 2.90 (s, 4H, H_a) 2.69 (s, 12H, H_b) (Figura A2 em anexo)

2.2.3. Síntese do ligando Tris(4-Piridil)-s-Triazina (Py_3T) (**3**)³²



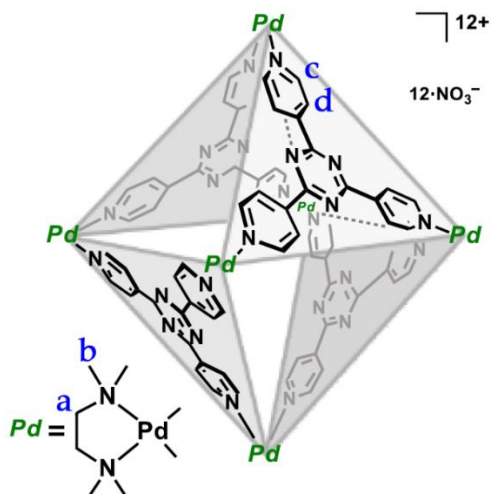
Esquema 2.3 - Estrutura molecular de **3**

Pesou-se 1 eq de 4-cianopiridina (10,02 g, 96,21 mmol) e aqueceu-se dentro de um *ace pressure tube* em banho de areia, com agitação constante. Colocou-se a temperatura inicial a 50°C aumentando-se progressivamente. Adicionou-se 0,1 eq de hidróxido de sódio (NaOH) (0,384 g, 9,62 mmol) ao tubo. Após se ter fundido a 4-cianopiridina toda colocou-se a temperatura final a 150°C e deixou-se a reagir por 1 dia em atmosfera inerte.

Lavou-se o sólido amarelado com acetona obtendo-se um pó esbranquiçado. Dissolveu-se o sólido obtido em HCl 2M, adicionou-se carvão ativado e levou-se aos ultrassons por 30 minutos. Filtrou-se o produto sob celite e adicionou-se 50 mL de uma solução aquosa de NaOH 5M, obtendo-se um precipitado branco. Filtrou-se de novo e lavou-se com água e acetona. Obteve-se o produto desejado sob a forma de um sólido branco com um rendimento de 53% (5,23 g).

$^1\text{H RMN}$ (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8.94 (s, 6H, H_a) 8.56 (s, 6H, H_b) (Figura A3 em anexo)

2.2.4. Síntese da cápsula de coordenação $\text{Pd}_6\text{L}_4^{32}$



Esquema 2.4 - Representação 3D da cage Pd_6L_4 , onde $\text{L}=\mathbf{3}$

Utilizou-se 6 eq de **2** (0,6 g, 1,73 mmol) e 4 eq de **3** (0,485 g, 1,15 mmol), que se misturaram em conjunto com 40 mL de H_2O num Schlenk. A reação foi feita a 85°C durante 1 hora, numa atmosfera inerte sob atmosfera de argon.

Após ter reagido concentrou-se o composto no rotavapor. Recristalizou-se a -4°C no congelador por 2 dias com H_2O . Filtrou-se o precipitado por placa porosa e lavou-se com 10 mL de etanol. Obteve-se 2 *batches*, de composto puro com um rendimento final de 98% (0,942 g).

^1H RMN (400 MHz, D_2O) δ (ppm): 9.32 (d, $J = 6.0$ Hz, 24H, *Hc*) 8.79 (d, $J = 6.0$ Hz, 24H, *Hd*) 3.20 (s, 24H, *Ha*) 2.80 (s, 72H, *Hb*) (Figura A4 em anexo)

UV-Vis (em tampão fosfato 10 mM diluída em H_2O) λ (nm): 258 (Máximo de absorvância) (Figura A5 em anexo).

2.2.5. Preparação das Soluções

Foram preparadas duas soluções-tampão, uma de acetato e outra de fosfato. Para a solução-tampão de acetato adicionaram-se 0,169 mL de ácido acético, CH_3COOH a 0,955 g, de acetato de sódio trihidratado, $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Preparou-se uma solução de 100 mL, de concentração 0,1 M. Mediu-se o pH desta solução que registou 5,09.

A solução-tampão de fosfato foi preparada com 2,07 g de hidrogenofosfato disódico dodecahidratado, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ e 0,582 g de dihidrogenofosfato de sódio hidratado, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Foi perfeita uma solução de 100 mL com água, a concentração 0,1 M. O pH desta solução é de 7,01.

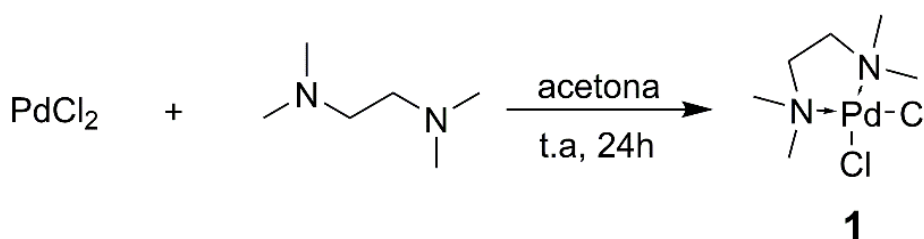
A solução-mãe do corante chalcona foi preparada com 0,0048 g de corante e diluído em 10 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,001 M. A solução-mãe do corante flavílio foi preparada com 0,00105 g de corante e diluiu-se em 25 mL de água, completando uma solução de concentração 0,001 M. A solução-mãe do corante piranina foi preparada com 0,00264 g de corante e diluiu-se em 50 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,0001 M. A solução-mãe do corante fluoresceína ($\lambda_{\text{exc}}=499$ nm) foi preparada com 0,00376 g de corante e diluiu-se em 100 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,0001 M. A solução-mãe do corante violeta de pirocatecol foi preparada com 0,00375 g de corante e diluiu-se em 100 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,0001 M. A solução-mãe do corante rodamina B foi preparada com 0,00244 g de corante e diluiu-se em 50 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,0001 M. A solução-mãe do corante eosina Y ($\lambda_{\text{exc}}=520$ nm) foi preparada com 0,00689 g de corante e diluiu-se em 100 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,0001 M. A solução-mãe do corante eritrosina B ($\lambda_{\text{exc}}=520$ nm) foi preparada com 0,00879 g de corante e diluiu-se em 100 mL de água, obtendo-se uma solução de concentração 0,0001 M.

A solução-mãe do fármaco ibuprofeno foi preparada com 0,00104 g de ibuprofeno e diluiu-se em 25 mL de solução-tampão fosfato, obtendo-se uma solução de concentração 0,001 M. A solução-mãe do fármaco naproxeno foi preparada com 0,00633 g de naproxeno e diluiu-se em 25 mL de solução-tampão fosfato, obtendo-se uma solução de concentração 0,001 M. A solução-mãe do fármaco penicilina foi preparada com 0,00745 g de penicilina e diluiu-se em 20 mL de solução-tampão fosfato, obtendo-se uma solução de concentração 0,001 M.

Resultados e Discussão

3.1. Síntese da cápsula de coordenação M_6L_4

Neste trabalho foram feitas quatro reações necessárias para a formação da cápsula de coordenação desejada. Tal como está esquematizado no Esquema 3.1, partiu-se de cloreto de paládio (II), $PdCl_2$, um reagente com uma estrutura molecular quadrangular planar. Fez-se reagir com N,N,N',N'-Tetrametiletenodiamina, tmeda, em acetona, tendo-se obtido $Pd(tmeda)Cl_2$ com um rendimento de 77%. Este complexo de paládio (II) apresenta diamagnetismo ao longo de todas as sínteses que o envolvem. A sua configuração eletrónica de $[Kr] 4d^{10}$. Como tem todos os seus eletrões da camada de valência emparelhados, confere-lhe essa propriedade.

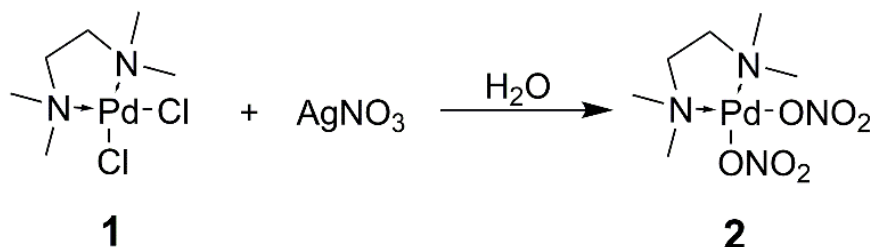


Esquema 3.1 - Esquema reacional para a formação de 1.

Analisou-se o composto **1** por 1H RMN (Figura A1 em anexo) e verificaram-se 2 picos. Esta molécula é simétrica, logo é expectável que se registem dois singletos, e não dois dupletos. Quando comparando os grupos CH_2 presentes na molécula, estes estão em condições idênticas, logo os picos de ambos os grupos vão-se sobrepor originando um singlete, ao invés de um duplete. O raciocínio aplica-se também ao analisar os grupos CH_3 . Um desses picos encontra-se a 2,72 ppm e corresponde aos hidrogénios dos CH_2 e o outro a 2,64 ppm, dos hidrogénios nos grupos metilo. Estes resultados estão de acordo com a

literatura^{32,48}. Está também presente no espetro um pico a 3,32 ppm que se concluiu ser de vestígios de água no composto **1**⁴⁹.

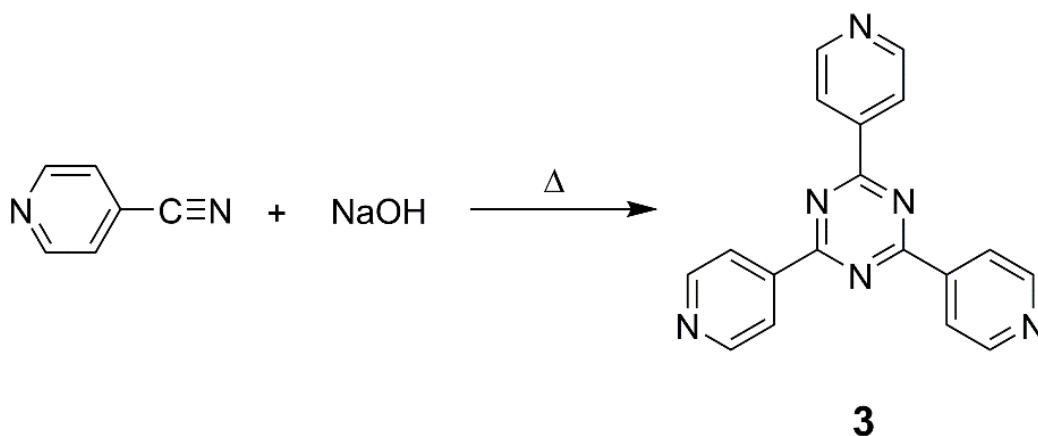
Partindo do composto **1**, adicionou-se-lhe nitrato de prata, AgNO₃, em água para se obter o composto **2**, precursor da formação da *cage*, tal como indica o Esquema 3.2. Nesta reação obteve-se um rendimento de 97%.



Esquema 3.2 - Esquema reacional da formação do precursor 2.

Ao se analisar o espetro de ¹H RMN realizado ao composto **2** (Figura A2 em anexo) observam-se dois picos bem definidos; a 2,90 ppm está o singlete correspondente aos hidrogénios dos grupos CH₂ e a 2,69 ppm o singlete dos hidrogénios dos grupos CH₃, conforme mostra a literatura³². Pelo facto de a molécula ser também simétrica, neste caso só se vão observar dois picos, sendo estes singletos. As moléculas dos compostos **1** e **2** são semelhantes, havendo apenas alteração do grupo cloreto (Cl⁻) para nitrato (NO₃⁻), respetivamente, que se comprova ao comparar os espetros de RMN, o que é expectável. É também esperado um pequeno desvio nos picos para campos mais baixos no caso do espetro do composto **2**. Este acontecimento deve-se aos grupos nitrato terem um maior momento dipolar, diminuindo a densidade eletrónica presente no paládio, levando os hidrogénios em questão a ficarem mais desblindados de eletrões e assim ocorre o desvio dos picos para campos mais baixos.

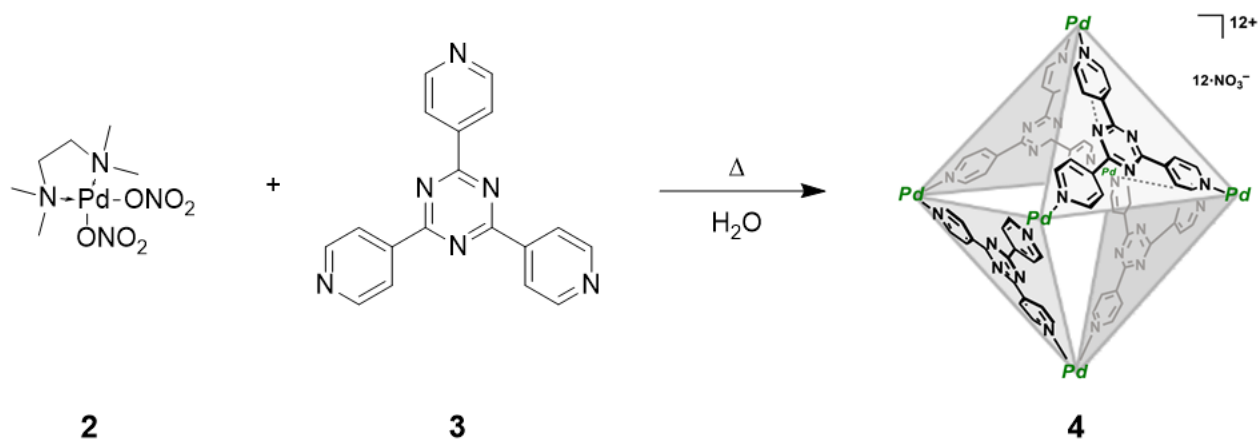
A síntese do ligando a utilizar da formação da cápsula de coordenação foi feita através da reação de 4-cianopiridina com hidróxido de sódio (NaOH) aquecendo num tubo *ace* para altas pressões fechado com tampa de teflon. O esquema desta reação está demonstrado no Esquema 3.3, e obteve-se um rendimento de 53%.



Esquema 3.3 - Esquema reacional da formação do ligando 3.

Traçou-se o espectro de ^1H RMN deste composto (Figura A3 em anexo) e obtiveram-se dois picos esperados do ligando, ambos singletos, por mais uma vez se estar a falar de uma molécula simétrica. A 8,94 ppm está o pico correspondente ao hidrogénio que se encontra mais próximo do átomo de azoto, e a 8,56 ppm o hidrogénio seguinte. Estes valores estão uma vez mais de acordo com a literatura^{32,50}. Para além dos picos mencionados, é também possível observar uma contaminação por água, correspondente ao pico a 1,59 ppm.

Por fim os compostos **2** e **3** reagiram em água que, após aquecimento deram origem à cápsula de coordenação Pd_6L_4 , tal como mostra o Esquema 3.4. Obteve-se dois *batches* de produto que, totalizando dão um rendimento de 98%. Considerando as quatro reações descritas acima, o rendimento global da síntese da cage é de 39%. Um aspeto positivo desta reação é o facto da maior parte dos passos ocorrerem em meio aquoso, o que a torna menos poluente para o ambiente, contribuindo para uma química mais sustentável⁵¹. Como o intuito principal é utilizar esta *cage* para a encapsulação de fármacos presentes em água, o facto de esta ser solúvel em água é fundamental.

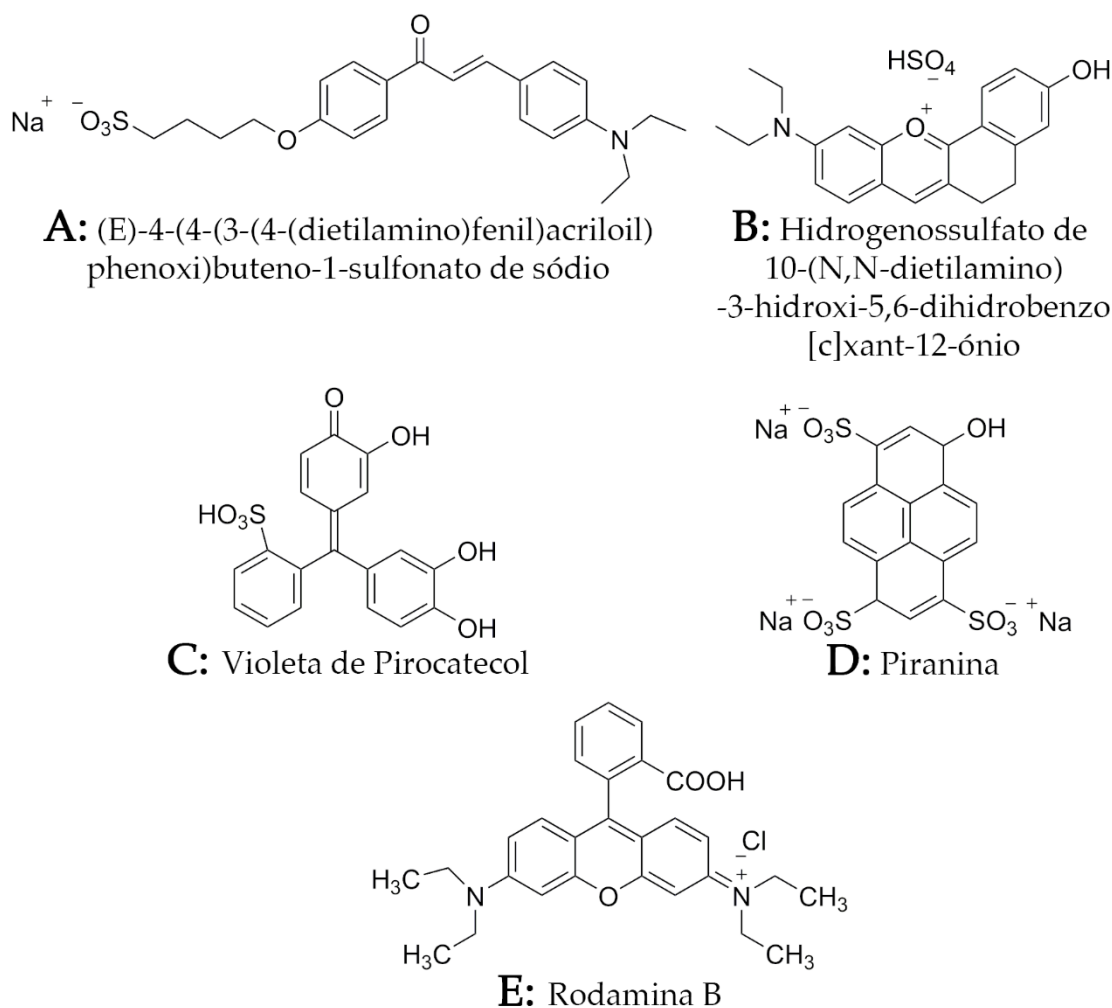


Esquema 3.4 – Reação de formação da cápsula de coordenação M_6L_4

Analisou-se a *cage* por ^1H RMN (Figura A4 em anexo) é possível distinguir 4 picos respetivos à *cage*. A 9,32 ppm está representado o duplete correspondente ao hidrogénio mais próximo do átomo de azoto do ligando e a 8,79 ppm o outro duplete do seguinte hidrogénio do ligando. 3,2 ppm é o pico dos átomos de hidrogénio ligados a um carbono CH_2 do complexo de paládio, e a 2,80 ppm engloba os átomos de hidrogénio dos metilos desse mesmo complexo. Estes valores estão de acordo com a literatura^{21,32}. Mais uma vez há simetria presente na *cage* e por isso ocorre sobreposição dos picos idênticos. Para além do espetro de RMN de protão, traçou-se também o espetro de UV-Visível onde a *cage* estava numa solução-tampão de fosfato. Observou-se um máximo de absorção a comprimento de onda de 258 nm.

3.2. Testes Iniciais com Corantes

Para a obtenção de um sensor supramolecular eficaz na encapsulação de poluentes, aferiu-se um leque de corantes com diversas estruturas moleculares para uma triagem destes. No Esquema 3.5 estão agrupados todos os corantes que tiveram resultados menos satisfatórios e por isso não são considerados aptos para um possível sensor supramolecular.



Esquema 3.5 – Estruturas moleculares dos cinco corantes inicialmente testados. Corante A: (E)-4-(4-(3-(4-(dietilamino)fenil)acrilóil)fenoxi)buteno-1-sulfonato de sódio. Corante B: Hidrogenossulfato de 10-(N,N-dietilamino)-3-hidroxi-5,6-dihidrobenzo[c]xant-12-ônio. Corante C: Violeta de Pirocatecol⁵². Corante D: Piranina⁵³. Corante E: Rodamina B⁵⁴.

Ao longo dos diversos testes com os corantes, são muitas vezes incluídas soluções-tampão. Estas têm como função manter estável o pH do meio, onde deste modo a estrutura molecular do corante em estudo não varie.

3.2.1. Corante

A:

(E)-4-(4-(3-(4-

(dietilamino)fenil)acrilóil)fenoxi)buteno-1-sulfonato de sódio

Este foi o primeiro corante a ser testado. É um corante da família das chalconas e foi feita uma titulação da cápsula de coordenação juntamente com o corante, em tampão-fosfato. Os resultados dessa mesma titulação estão representados na Figura 3.1.

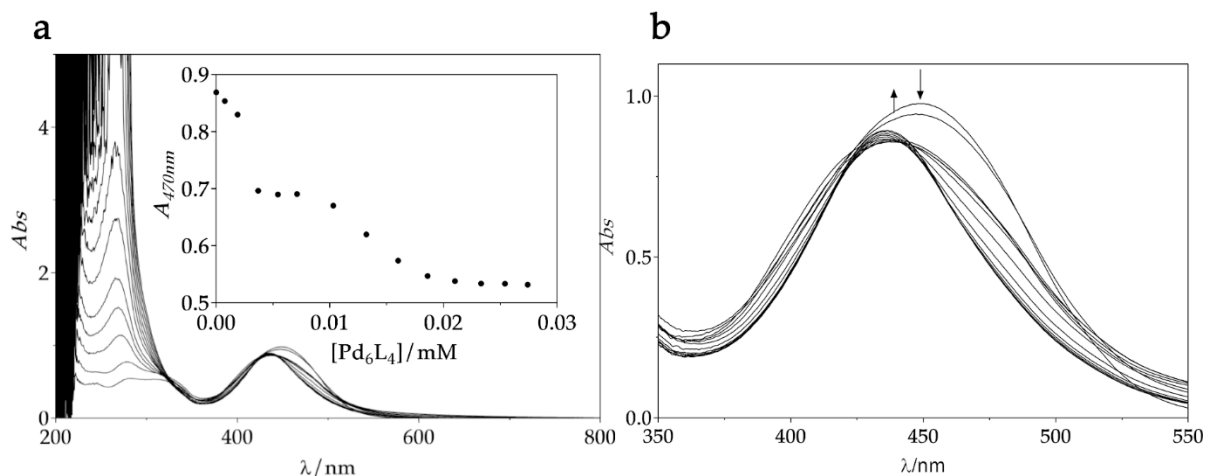


Figura 3.1 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com o corante A (0,04 mM) em tampão fosfato (10 mM). O inset representa a variação de absorvância a 470nm em função da concentração de cage; (b) Ampliação na zona dos 350-550 nm da titulação em (a).

Por observação da Figura 3.1, é possível concluir que há uma fraca linearidade dos resultados, atribuídos a uma encapsulação ineficiente após a 4^a adição de cage. Com isto se prevê ter havido encapsulações distintas durante o processo de titulação. Como mostra o Esquema 3.5 a sua estrutura molecular é extensa, devido à cadeia de carbonos presentes, é possível ser este um fator que influenciou a sua fraca encapsulação. De notar a presença do grupo sulfato neste e em grande parte dos corantes presentes no Esquema 3.5. Como é descrito a seguir, a sua presença é coincidente com os resultados insatisfatórios obtidos nas titulações.

3.2.2. Corante B: Hidrogenossulfato de 10-(N,N-dietilamino)-3-hidroxi-5,6-dihidrobenzo[c]xant-12-ônio^{55,56}

Com este corante, um flavílio, foram feitas duas titulações em tampão acetato e fosfato para testar a influência dos diferentes pH no meio envolvente ao sistema. Nas figuras seguintes estão as titulações em espectroscopia de UV-Vis com ambos os tampões mencionados.

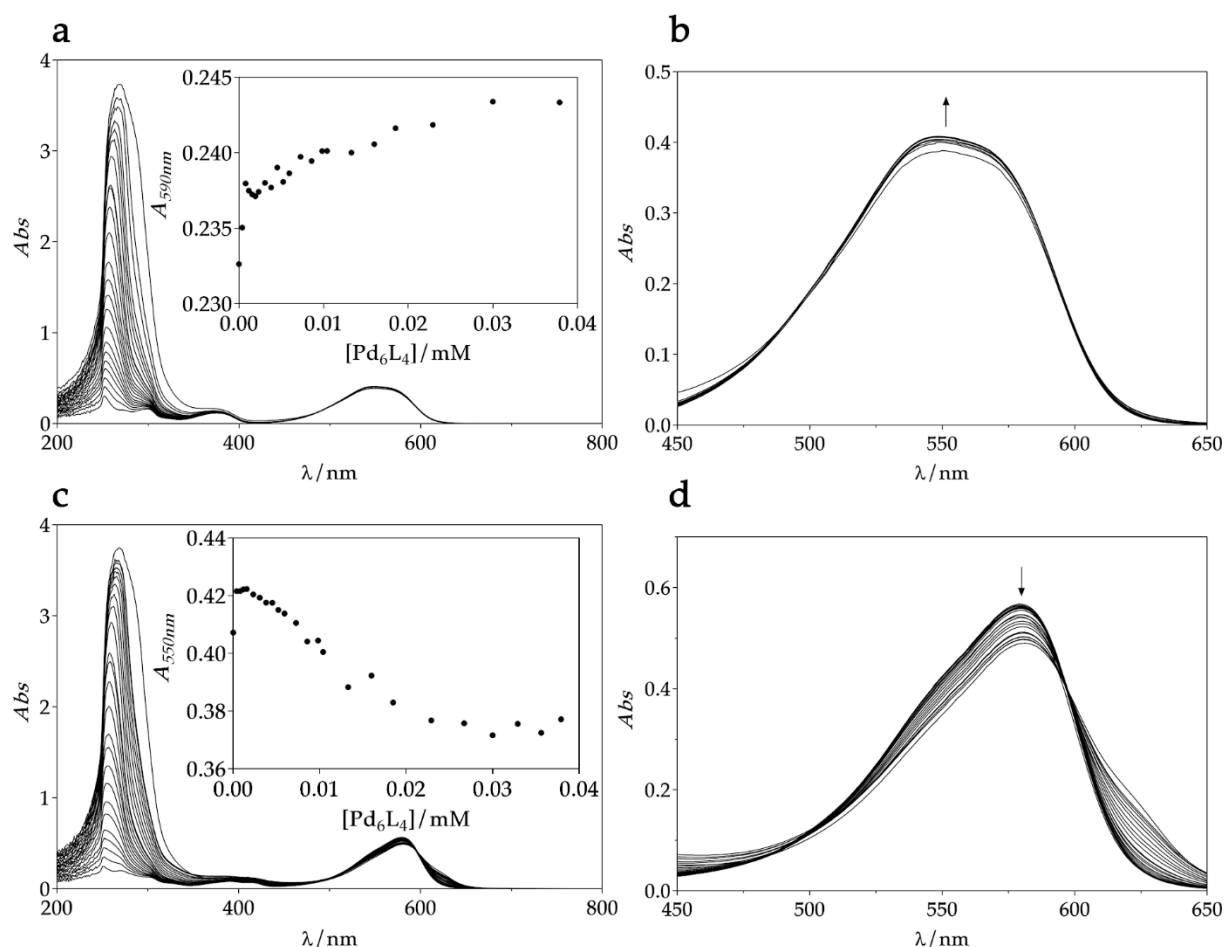


Figura 3.2 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com corante **B** (0,04 mM) em tampão acetato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 590 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 450-650 nm da titulação em (a). (c) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com corante **B** (0,04 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 550 nm em função da variação da concentração de cage (d) Ampliação na zona dos 450-650 nm da titulação em (c).

Nesta primeira titulação foi usado o tampão acetato preparado previamente. Este tampão apresenta um valor de pH de 5,09. Sendo este valor de pH de caráter ácido ocorre a desprotonação do oxigénio do anel benzénico. De acordo com o gráfico da titulação não são observadas grandes variações nas absorvâncias à medida que se adiciona mais corante, o que sugere uma fraca, ou quase inexistente encapsulação do corante **B**.

Na titulação em tampão fosfato, tendo esta solução um pH=7,01, notou-se uma curta variação da absorvância ao longo da titulação. De acordo com o gráfico de absorvância a 550 nm em função da concentração de cage adicionada, o gráfico observado não apresenta linearidade dos resultados e sem estabilização da absorvância, o que pode indicar encapsulamento incompleto durante o processo de titulação. Há dois aspetos importantes que se esperam obter numa titulação deste género. Primeiramente tem que

ocorrer um decréscimo da absorvância à medida que a quantidade de *cage* no meio aumenta, o que mostra que a *cage* está a encapsular o corante, e com essa encapsulação a quantidade de corante no meio é menor e por consequente a absorvância medida é também menor. E o segundo resultado que se procura é a obtenção de um patamar constante de absorvância, com o aumento da concentração de *cage*. Isto indica que todo o corante foi encapsulado pela *cage* pelo facto de não existirem mais decréscimos nos valores de absorvância.

3.2.3. Violeta de Pirocatecol

Para este próximo corante definiu-se usar a solução-tampão de fosfato para acompanhar o estudo da titulação da *cage* com o violeta de pirocatecol.

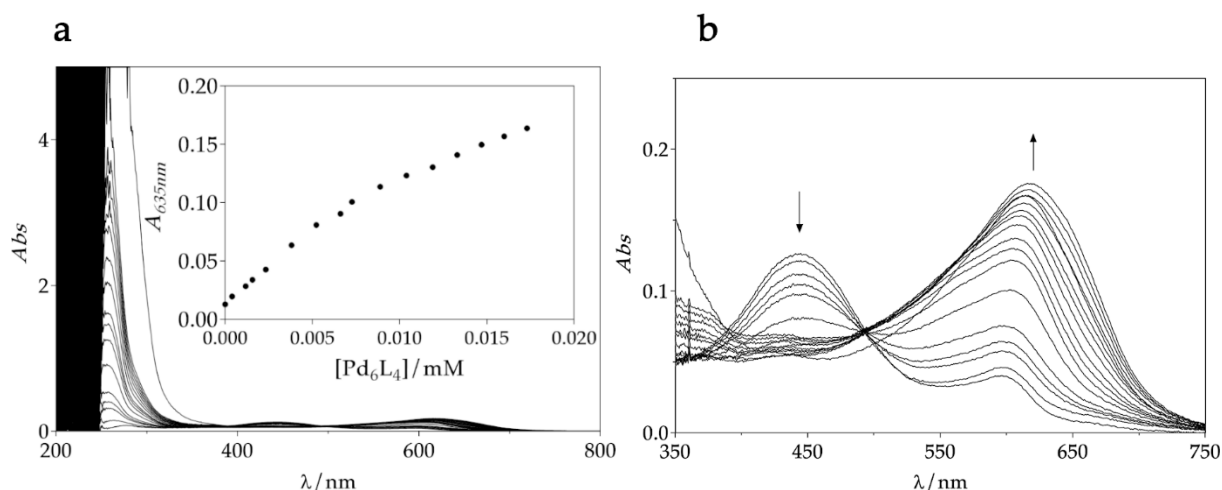


Figura 3.3 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd₆L₄ com Violeta de Pirocatecol (0,01 mM) em tampão acetato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 635 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 350-750 nm da titulação em (a).

Pelo facto de não haver estabilização da curva no inset da Figura 3.3, concluiu-se que a titulação foi inacabada. Pode-se explicar este ponto pela dificuldade de o corante entrar na cavidade oca da cápsula de coordenação, devido a interações iónicas do corante com a *cage*, que por sua vez é carregada positivamente.

3.2.4. Piranina

Usou-se o corante piranina para testar a sua viabilidade como sensor supramolecular, obtendo-se uma titulação da cápsula de coordenação, como mostra a seguinte figura.

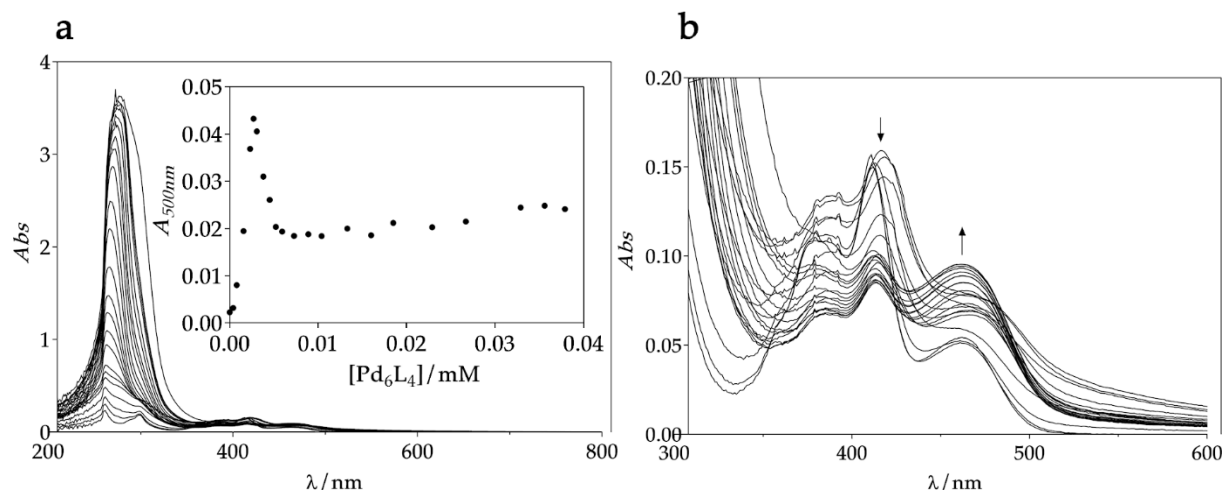


Figura 3.4 - (a) Titulação em UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Piranina (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 500 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 300-600 nm da titulação em (a).

Neste caso há bastantes irregularidades no que diz respeito à titulação e é possível confirmar um pequeno desvio em relação ao eixo dos comprimentos de onda. O espectro mostra esse desvio e impossibilita-nos de retirar conclusões sobre a atuação do corante no mesmo ambiente que a cage. Por essa razão decidiu-se descartar este corante como opção para sensor supramolecular adequado.

3.2.5. Rodamina B

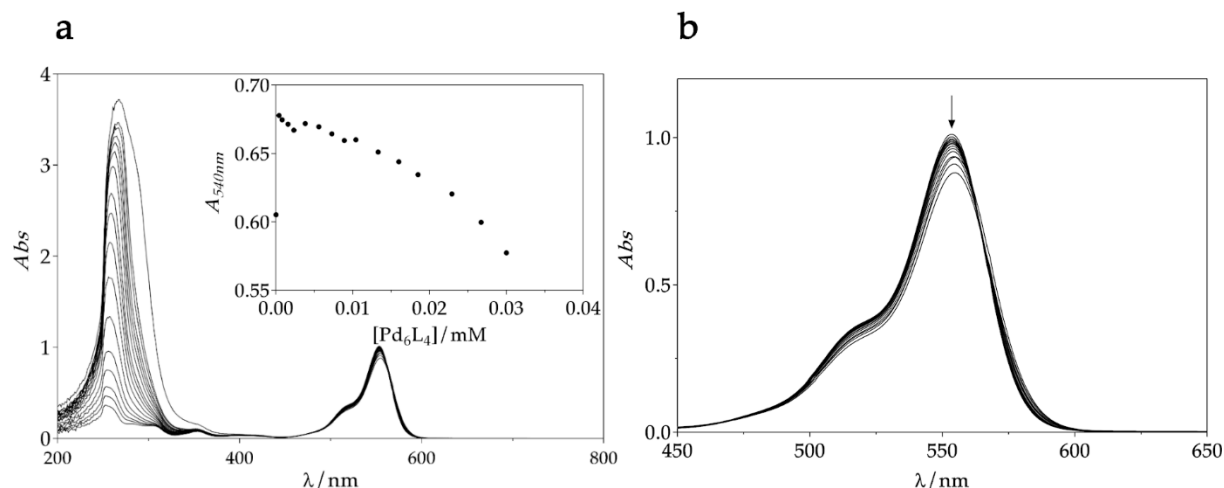
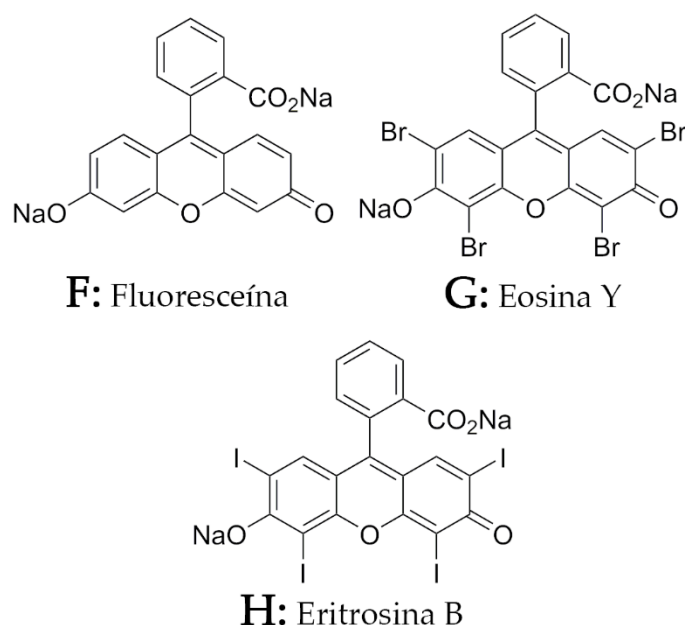


Figura 3.5 - (a) Titulação em UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Rodamina B (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 540 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 450-650 nm da titulação em (a).

Com o corante rodamina B o resultado obtido foi de uma fraca variação na absorvância, como exemplificada pelo espectro (b) da Figura 3.5, e uma reta com declive no *inset*, sem qualquer estabilização da absorvância.

3.3. Testes com Corantes Fluoresceína, Eosina Y e Eritrosina B

Foi inicialmente escolhida a fluoresceína para testar a sua viabilidade num futuro sensor supramolecular. Como vai ser possível analisar mais à frente, a sua boa e forte resposta aos testes a que foi submetida fez testar mais dois corantes, da mesma família que a fluoresceína, diferindo apenas em quatro átomos, como mostra o Esquema 3.6.



Esquema 3.6 - Estruturas moleculares dos corantes Fluoresceína, Eosina Y e Eritrosina B⁵⁵.

Com estas escolhas é pretendido fazer um estudo mais aprofundado destes 3 candidatos, para tentar perceber se há influência do substituinte hidrogénio, como é o caso da fluoresceína, comparativamente com o do bromo da eosina Y e do iodo da eritrosina B na capacidade de encapsulação destes corantes, foi efetuado.

Sendo um dos pontos deste trabalho encontrar um bom sensor supramolecular, usaram-se três métodos quantitativos: espectroscopia de Ultravioleta-Visível, espectroscopia de Fluorescência e espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Protão. Deste modo adquire-se um estudo quantitativo mais completo que colmata possíveis lacunas de um método com outros dados.

3.3.1. Titulações Seguidas por UV-Visível

As primeiras titulações apresentadas são do corante fluoresceína. Foi feita uma titulação da cápsula com a fluoresceína e obtiveram-se resultados bastante promissores. Sendo este um composto que apresenta fluorescência, conduziu-se estudos através de espectroscopia de fluorescência.

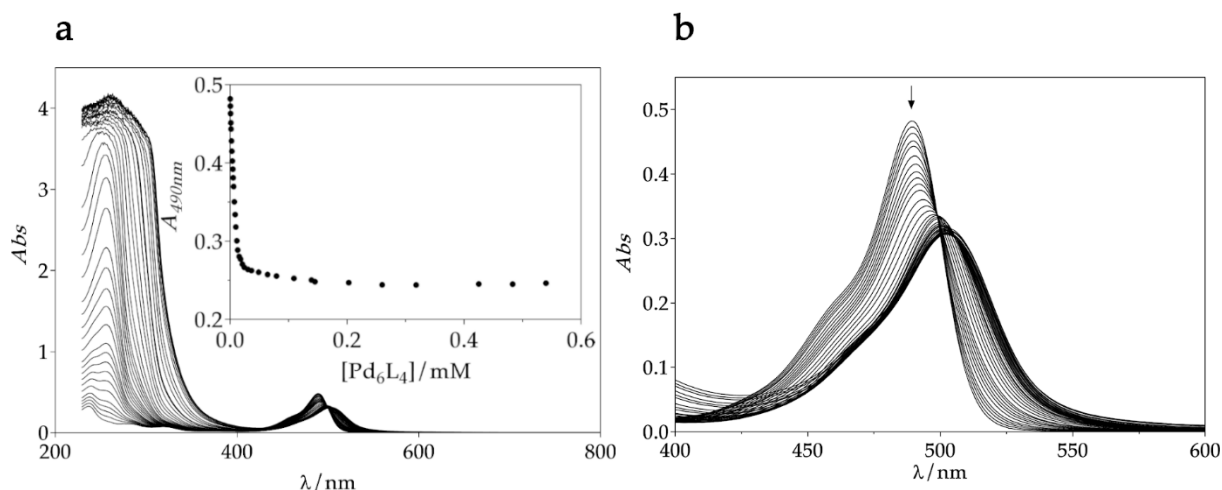


Figura 3.6 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd₆L₄ com Fluoresceína (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset com a variação da absorvância a 490 nm em função da variação da concentração de cage. (b) Ampliação na zona dos 400-600 nm da titulação em (a).

Nesta titulação da fluoresceína por UV-Vis observa-se a linearidade das curvas de titulação, mesmo após várias adições de concentrações superiores. Vê-se uma diminuição gradual dos valores de absorvância à medida que se aumenta a concentração de Pd₆L₄. Consegue-se observar um patamar constante de absorvâncias atingido, tendo em conta o inset do gráfico (a) da Figura 3.6, significando uma encapsulação total e completa do corante. Foi feita com este candidato a sensor supramolecular uma *job plot* onde se tentou descobrir a estequiometria do sistema cápsula:corante, mas sem grande sucesso. Esses resultados estão representados na Figura A9 em anexo.

Está a seguir representada a titulação da cápsula de coordenação com a eosina Y. Neste caso não houve a adição de solução-tampão para a titulação.

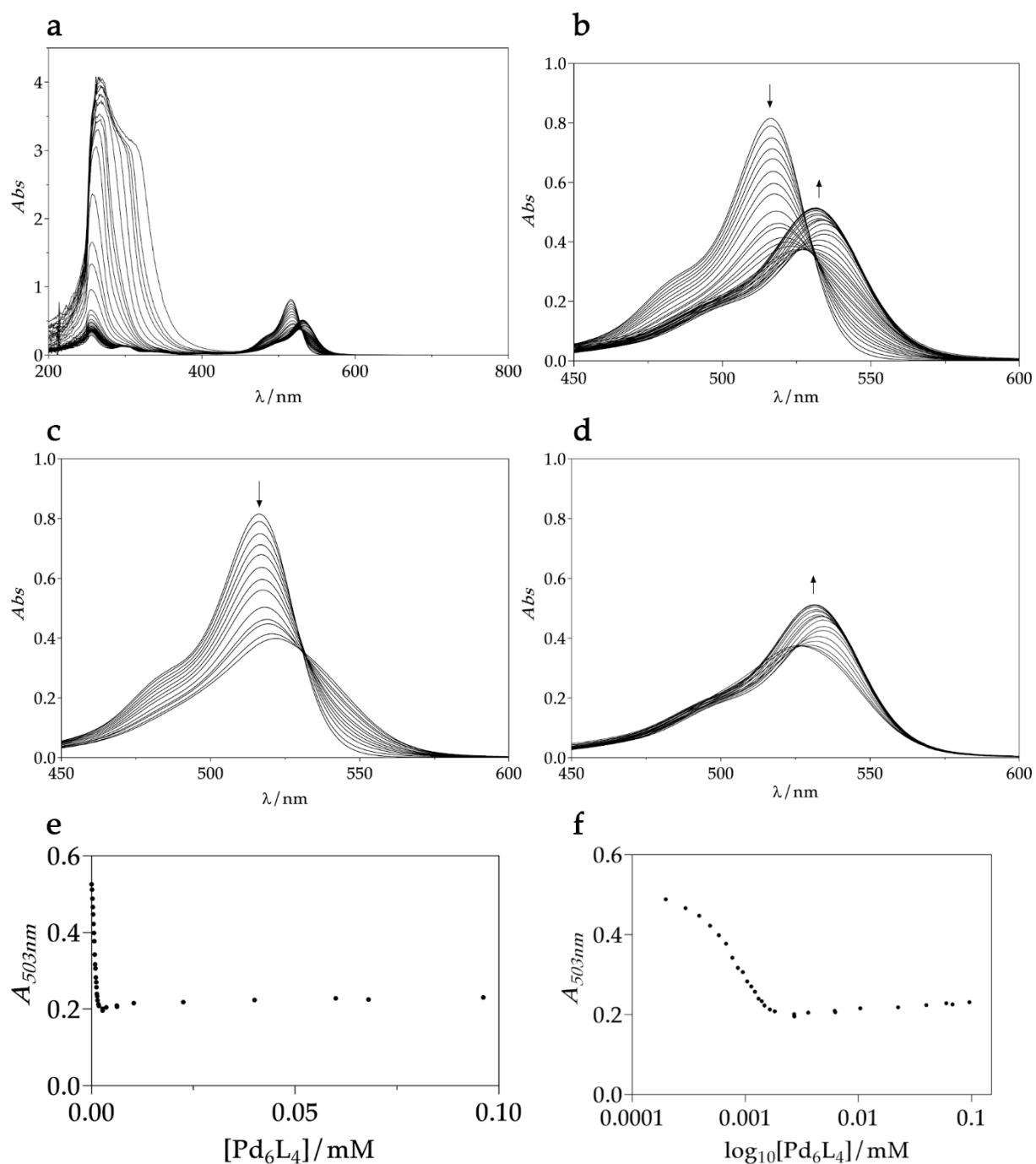


Figura 3.7 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Eosina Y (0,01 mM) (b) Ampliação do espectro em (a) na zona dos 450-600 nm. (c) Primeira parte da titulação em (b) onde se observa um primeiro ponto isosbético, $[\text{Pd}_6\text{L}_4] = 1,22 \text{ mM}$ (d) Segunda parte da titulação em (b). (e) Variação da absorvância a 503 nm em função da concentração de cage. (f) Variação da absorvância a 503 nm em função da concentração de cage representada em escala logarítmica de base 10.

Na titulação seguida por espectroscopia de UV-Vis é possível dividir o espectro em duas partes, tal como representado na Figura 3.7, nas alíneas (b) e (c). Observou-se com

clareza dois pontos isobécticos, mostrando que a forma como fármaco é encapsulado sofre uma alteração sensivelmente a meio da titulação. Ao gráfico da alínea (f) da Figura 3.7 tentou-se para tentar fazer o *fitting* (através de Excel com um modelo predefinido) não foram bem sucedidas, não havendo sobreposição do modelo 1:2 (*cage*:corante) com o gráfico da respetiva alínea, indicando que se encapsulam mais do que dois corantes no interior da cápsula de coordenação, possivelmente quatro.

Por fim, do lote selecionado de três corantes, está expressa abaixo a titulação por UV-Vis da eritrosina B, feita em condições idênticas à eosina Y, onde se titulou a cápsula de coordenação, com a eritrosina B.

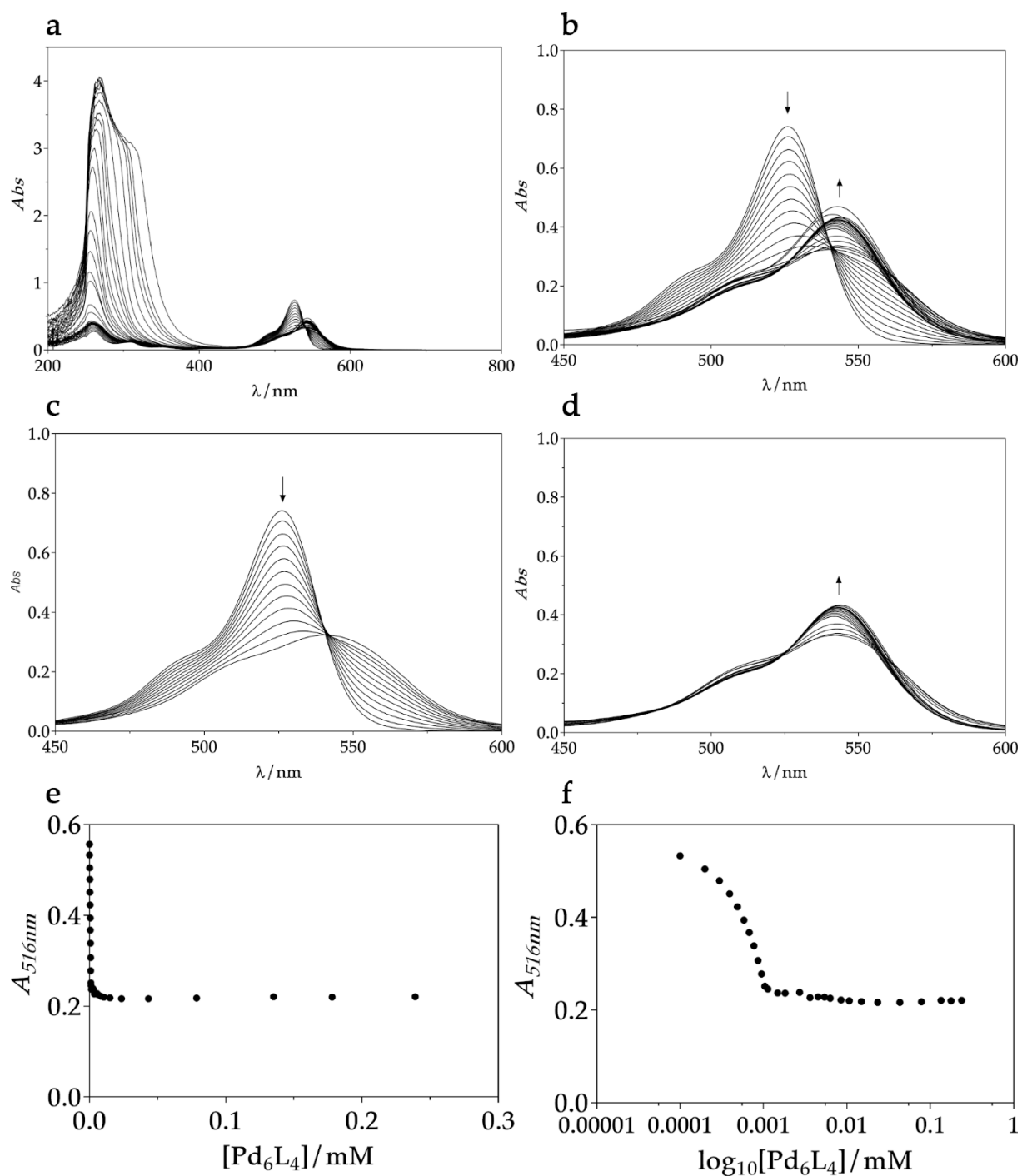


Figura 3.8 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Cage Pd_6L_4 com Eritrosina B (0,01 mM) (b) Ampliação do espectro em (a) na zona dos 450-600 nm. (c) Primeira parte da titulação em (b) onde se observa um primeiro ponto isobéstico, $[\text{Pd}_6\text{L}_4] = 1,13 \text{ mM}$ (d) Segunda parte da titulação em (b). (e) Variação da absorvância a 516 nm em função da concentração de cage. (f) Variação da absorvância a 516 nm em função da concentração de cage. representada em escala logarítmica de base 10.

Na titulação de UV-Vis deste corante, os resultados são semelhantes aos apresentados com o corante Eosina Y, onde há duas partes distintas, cada uma marcada por um ponto isobéstico. No caso do gráfico que mostra a concentração de *cage* em escala logarítmica, assenta no mesmo pressuposto que este é possivelmente um modelo de encapsulação de quatro moléculas de corante. Neste caso também não foi possível fazer o *fitting* da curva, com o mesmo modelo usado anteriormente.

3.3.2. Titulações Seguidas por Fluorescência

Para complementar o estudo da encapsulação seguido por UV-Vis fez-se estudos de fluorescência com a fluoresceína.

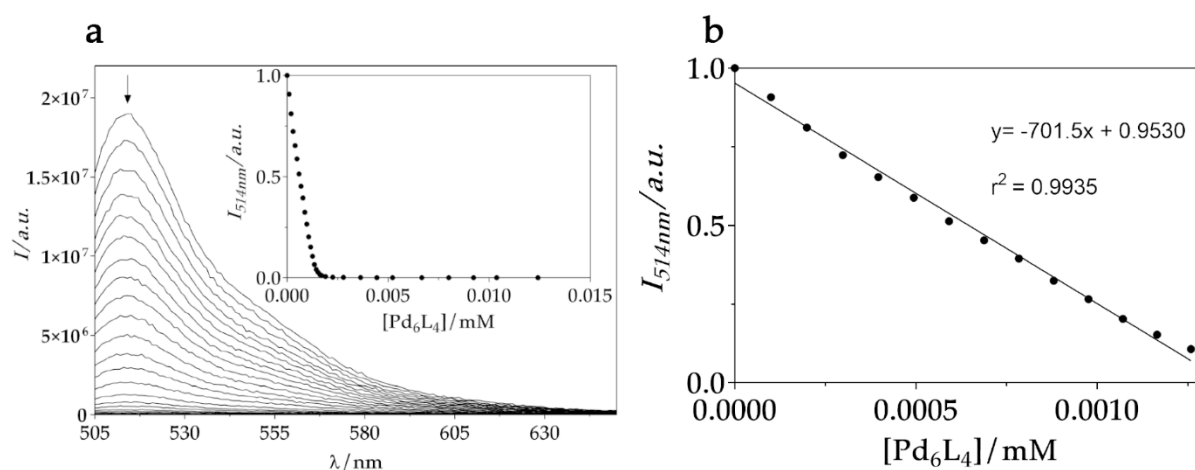


Figura 3.9 - Titulação seguida por fluorescência da Cage Pd_6L_4 com Fluoresceína (0,002 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{\text{exc}}=499$ nm. Inset com a variação da intensidade a 514 nm em função da concentração de cage⁵⁷ (b). Ampliação do inset em (a) até 0,00125 mM de $[\text{Pd}_6\text{L}_4]$ e reta traçada com a sua respetiva equação e r^2 .

Os resultados obtidos por esta técnica espectroscópica são uma vez mais um ponto a favor da fluoresceína. Pelo gráfico (a) da Figura 3.9, observa-se um decréscimo de intensidade à medida que se aumenta a concentração de *cage* no meio, e o devido patamar constante de absorvância. Representado na alínea (b) está uma ampliação do *inset*. Nesta é possível observar uma linearidade dos pontos obtidos, podendo até traçar uma reta, e fazendo a regressão linear dessa reta obtém-se um r^2 de 0,993, um valor bastante bom para uma reta.

Tal como a fluoresceína, seguiu-se a eosina Y por fluorescência e os resultados estão apresentados abaixo.

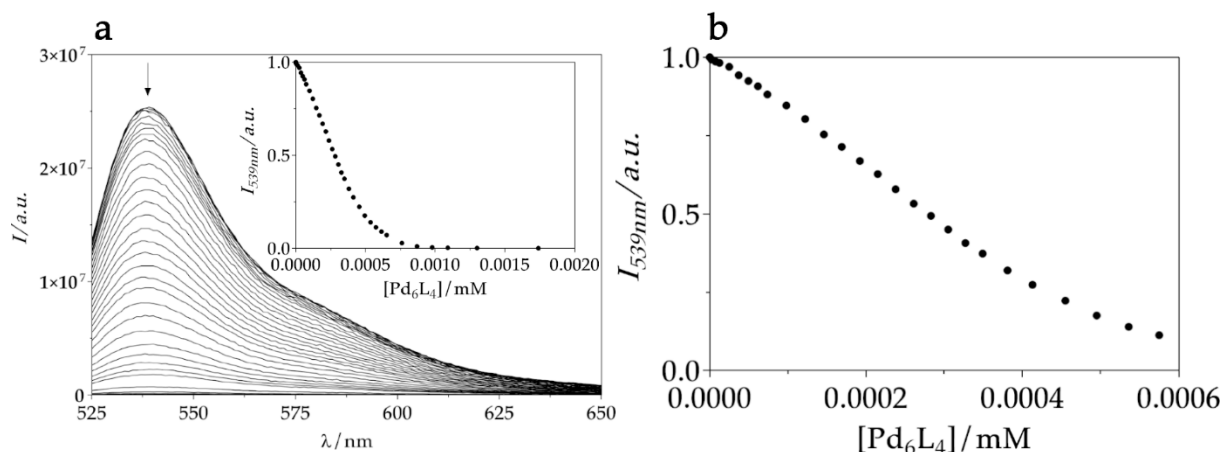


Figura 3.10 - (a) Titulação em fluorescência da Cage Pd_6L_4 com Eosina Y (0,002 mM); $\lambda_{\text{exc}}=520$ nm. Inset com a variação da intensidade a 539 nm em função da concentração de cage⁵⁷ (b) Ampliação até 0,0006 mM de $[\text{Pd}_6\text{L}_4]$ do inset do gráfico (a).

Semelhantes aos dados da titulação seguida por fluorescência da fluoresceína, com a eosina Y, concluiu-se que existe também um bom encapsulamento do corante. Neste caso não foi usada qualquer solução-tampão no meio pois após testes feitos com tampão fosfato, estes apresentaram um comportamento indesejado na encapsulação do corante. Aqui de novo observa-se linearidade na parte inicial da titulação, apesar de ser num intervalo inferior, quando comparado com a fluoresceína.

Por fim, fez-se a titulação da cápsula de coordenação da eritrosina B seguida também por fluorescência.

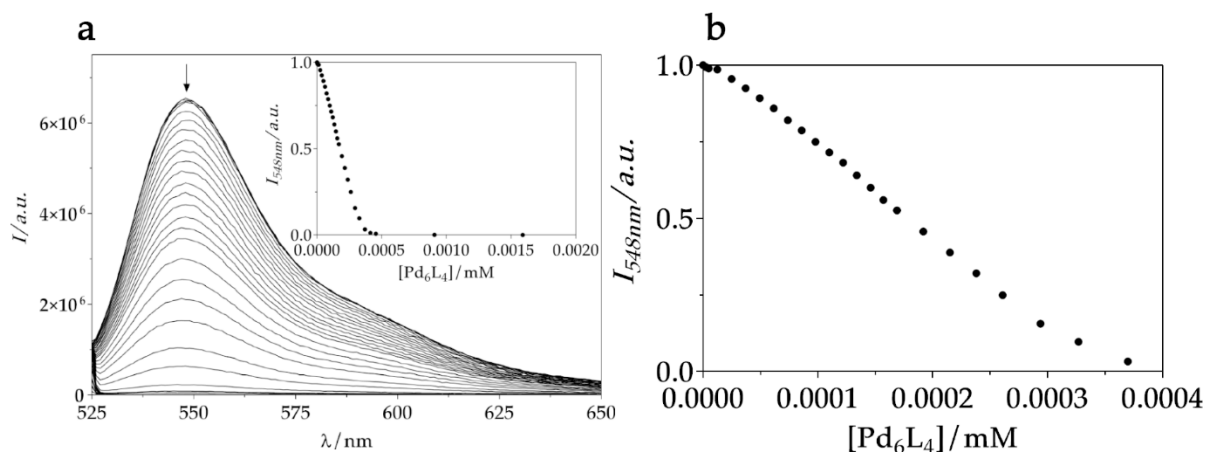


Figura 3.11 - (a) Titulação seguida por fluorescência da Cage Pd_6L_4 com Eritrosina B (0,002 mM); $\lambda_{\text{exc}}=520$ nm. Inset com a variação da intensidade a 548 nm em função da concentração de cage⁵⁷ (b) Ampliação até 0,0004 mM de $[\text{Pd}_6\text{L}_4]$ do inset do gráfico (a).

Como aconteceu com a fluoresceína e a eosina Y, a eritrosina B não foi exceção, apresentada um gráfico de titulação muito semelhante aos dois corantes mencionados, o que conclui o sucesso destas titulações. Observa-se o decréscimo constante dos valores

de intensidade quanto maior for a concentração de *cage* no meio. Aqui a semelhança com a eosina Y é maior, no que diz respeito o comportamento inicial da titulação.

3.3.3. Titulações Seguidas por ^1H RMN

Como não foi possível determinar anteriormente a estequiometria de encapsulação do corante na *cage*, fizeram-se titulações por RMN de próton aos mesmos corantes. Manteve-se a composição das soluções, ajustando o aumento das concentrações necessárias. No caso do RMN é necessário concentrar um pouco mais o que se quer analisar no espectrómetro pela relativa fraca sensibilidade, na ordem dos milimolar (mM).

Abaixo encontram-se os espectros da titulação com a fluoresceína.

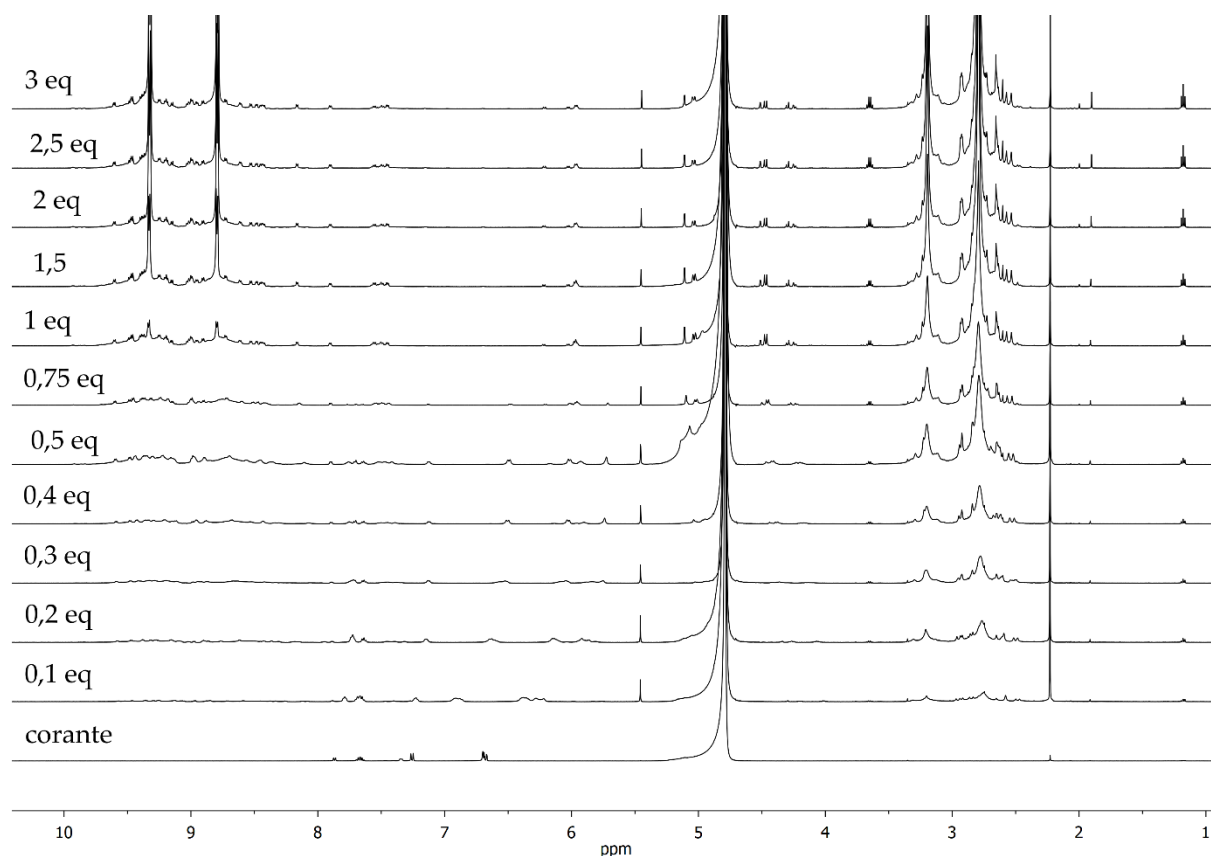


Figura 3.12 - Titulação seguida por ^1H RMN da cage Pd_6L_4 com Fluoresceína (500 MHz, D_2O), em tampão fosfato (10 mM), identificado o número de equivalentes de cage adicionados em cada espectro.

De seguida está o espectro da fluoresceína, ampliado na zona dos prótons aromáticos, que abrange grande parte dos prótons desta molécula. O espectro completo pode ser encontrado na Figura A6 em anexo.

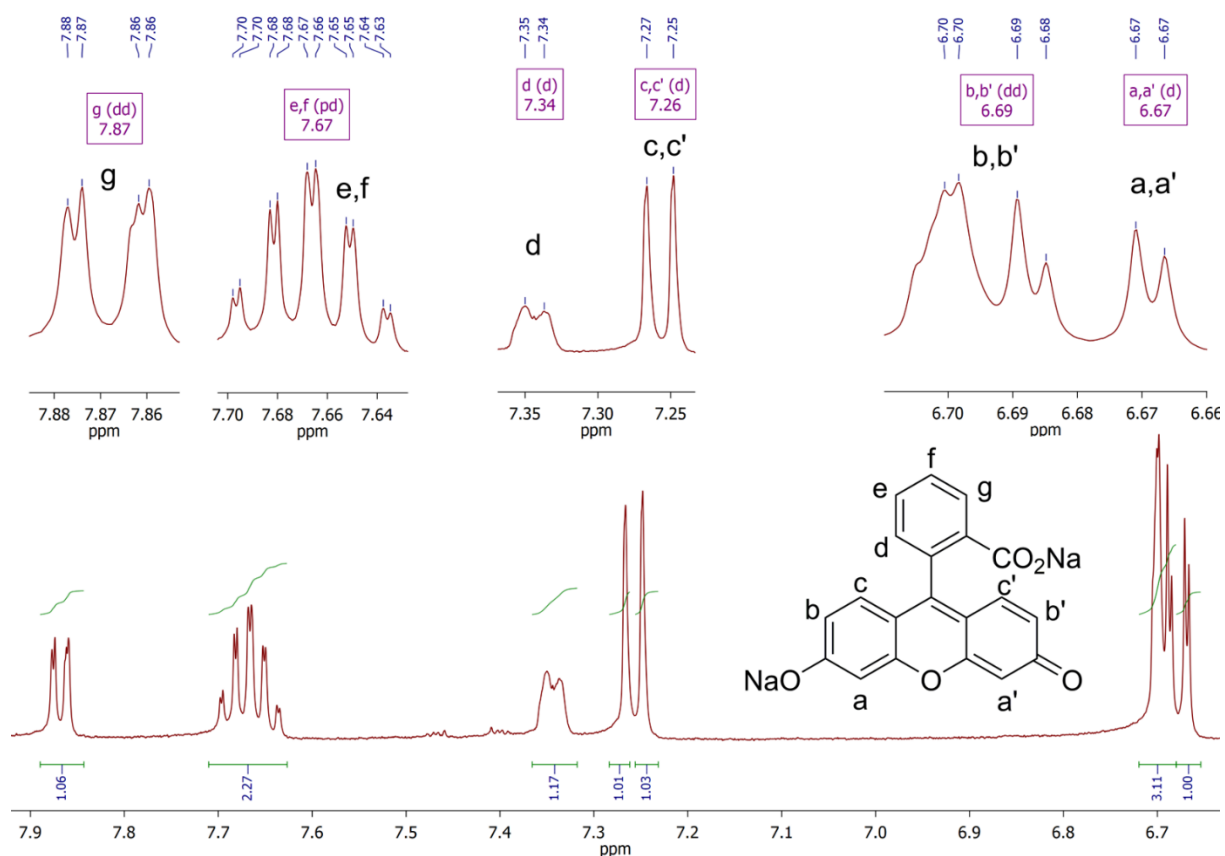


Figura 3.13 - Espectro de ^1H RMN do corante Fluoresceína, ampliado de 6,7-8 ppm (500 MHz, D_2O)⁵⁹

Este espectro da Figura 3.13 foi feito em D_2O e serve, primeiramente de caracterização do corante em estudo e também de controlo para a titulação, para comparar as diferenças com as sucessivas adições da cápsula de paládio. Há picos a ppm parecidos, mas por que a molécula não é simétrica não se obtêm protões em ambientes químicos idênticos. Este espectro está de acordo com a literatura.⁵⁹

Tanto a fluoresceína, a eosina Y e a eritrosina B são corantes que apresentam na sua estrutura molecular anéis aromáticos. Portanto nas titulações de RMN destas o foco prende-se a ppm mais altos, pois é esperado observar aí as alterações no espectro quando este interagir com a cápsula de coordenação.

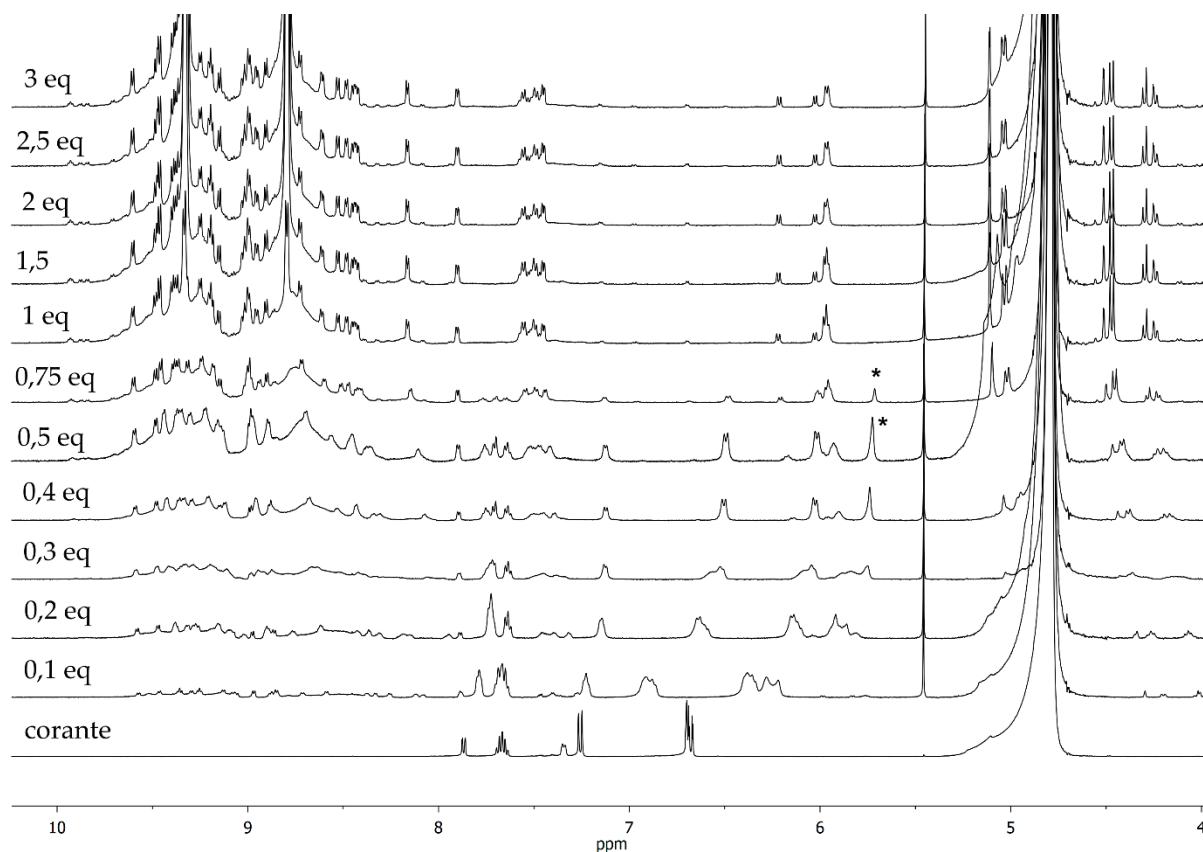


Figura 3.14 - Ampliação na zona dos 4-10 ppm da titulação da Figura 3.12.

O espectro que se encontra mais abaixo na Figura 3.14 é referente apenas ao corante, sem qualquer adição de *cage*. Após a adição de 0,1 equivalentes de *cage* ocorre um desvio dos picos referentes ao corante para campos mais altos. Estes são também alargados e este comportamento é visível até aos 0,5 equivalentes adicionados de *cage*. Comparando o espectro da adição de 0,5 eq com o seguinte, da adição de 0,75 eq, nota-se a diminuição de intensidade de um pico destacado com * a 5,75 ppm, até ao seu desaparecimento no espectro seguinte de 1 eq de *cage* adicionado. Isto indica a possibilidade de existir mais do que um encapsulamento da molécula de corante.

A partir de 1 equivalente de *cage* adicionado é possível observar os picos respetivos a esta a serem evidenciados e ganhando intensidade. Estes espectros de ^1H RMN foram feitos a frequências maiores, de 500 MHz para melhor distinção dos picos de interesse, mais precisamente na zona a que aparecem os prótons aromáticos, correspondente aos picos da *cage*. Comparando com o espectro de ^1H RMN referenciado anteriormente e representado na Figura A4 em anexo, há o aparecimento de novos picos nessa mesma zona. Na seguinte figura publicada em um artigo, é possível contabilizar 24 picos distintos entre si, que correspondem aos prótons dos anéis piridil do ligando da *cage*.⁵⁸

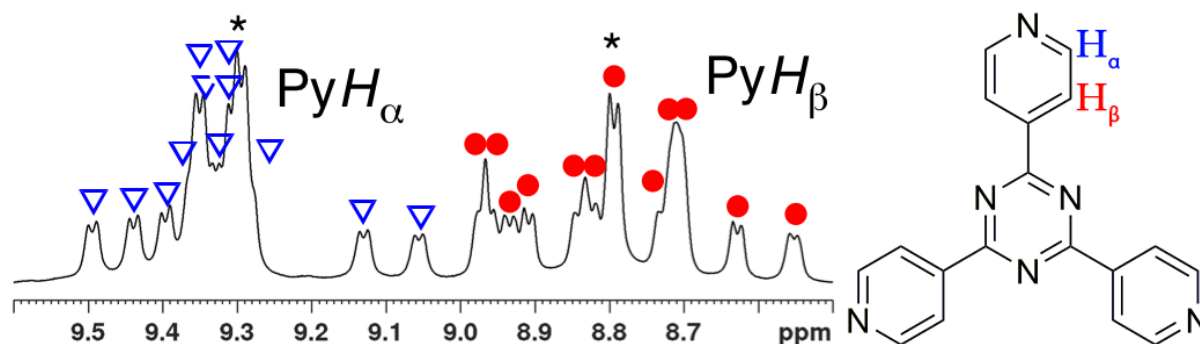


Figura 3.15 - Espectro de ^1H RMN retirado de um artigo, com ampliação entre 8,5-9,6 ppm que representa os 24 picos correspondentes aos prótons do anel de piridil do ligando Py_3T da cage.⁵⁸

Esta mudança observada é um fator que confirma a encapsulação da molécula, neste caso o corante. A cage é uma molécula simétrica como referido anteriormente portanto os picos idênticos sobrepõem-se. Como agora, após encapsulamento há a presença da molécula de corante, esta vai destruir a simetria alterando o ambiente químico dos prótons e assim faz com que todos eles estejam a ppm diferentes.

Em soluções semelhantes às usadas aquando da realização dos outros métodos quantitativos, fez-se a titulação com o corante eosina Y.

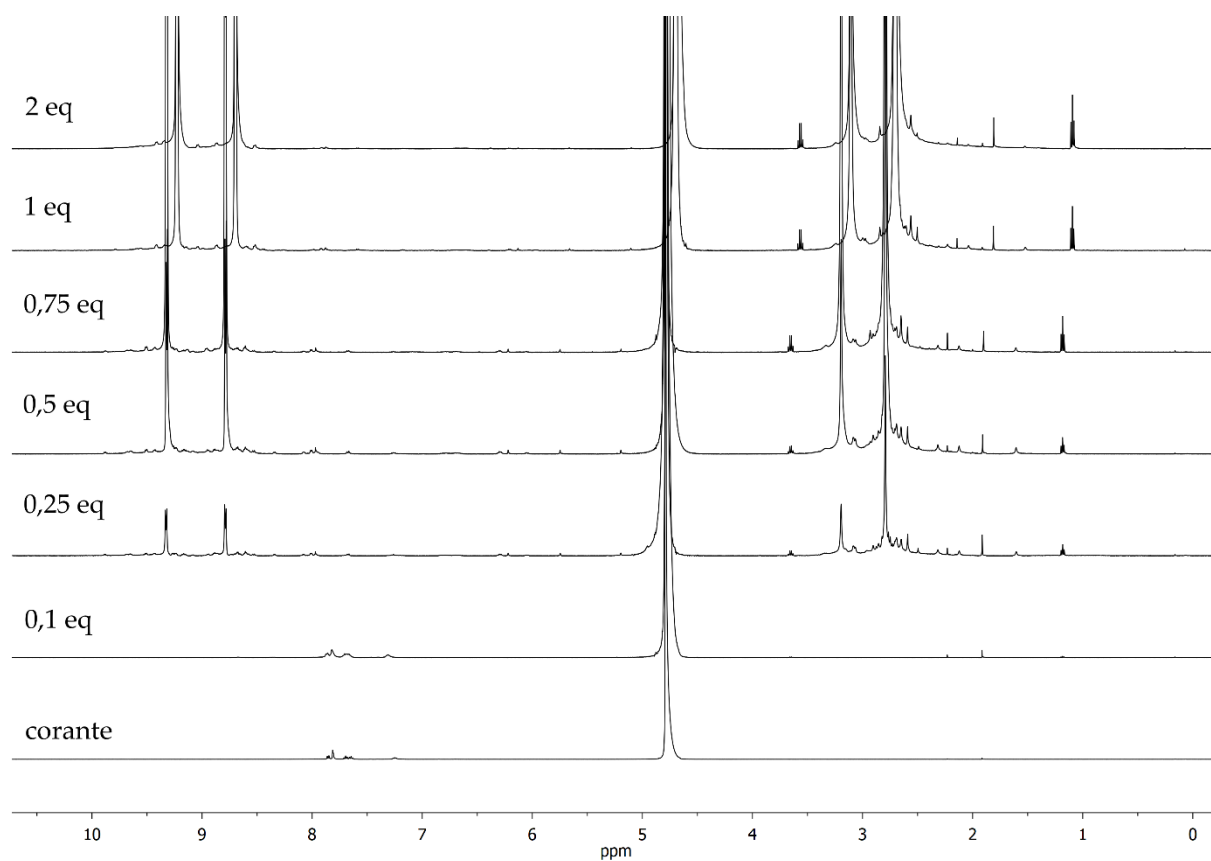


Figura 3.16 - Titulação seguida por ^1H RMN da cage Pd_6L_4 com Eosina Y (500 MHz, D_2O), com o número de equivalentes de cage adicionados ao longo da titulação.

Na Figura 3.17 está representado o espectro de RMN de próton da eosina Y, destacando a parte dos prótons aromáticos. O espectro completo do corante está na Figura A7 em anexo.

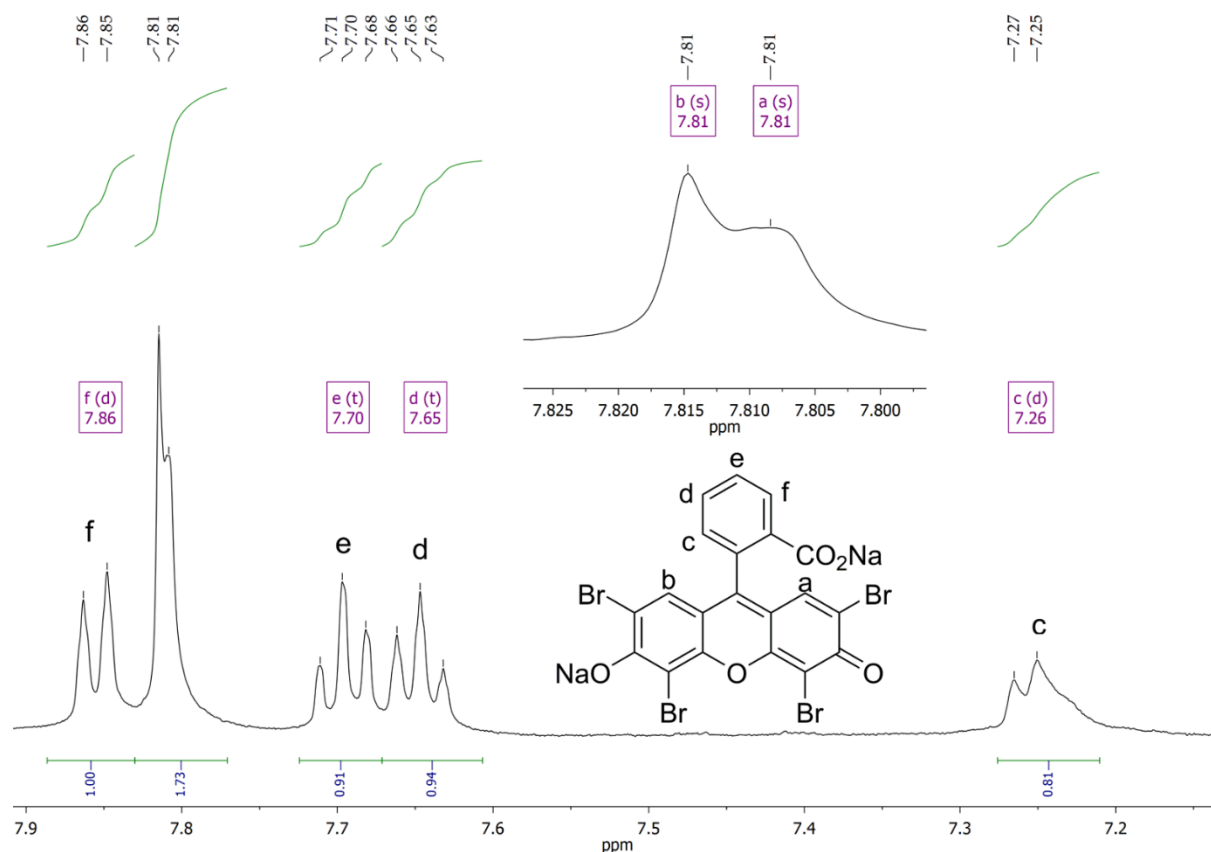


Figura 3.17 - Espetro de ^1H RMN do corante Eosina Y, ampliado de 7,1-7,9 ppm (500 MHz, D_2O)⁵⁹.

O grupo carboxilo não permite simetria do corante, o que leva a haver uma pequena diferença no que diz respeito os picos dos prótons nomeados como a e b. No geral a atribuição é semelhante à da literatura⁵⁹.

A figura abaixo é uma ampliação da Figura 3.16 focando-se apenas a campos mais baixos, onde se observam as interações do corante com a *cage*.

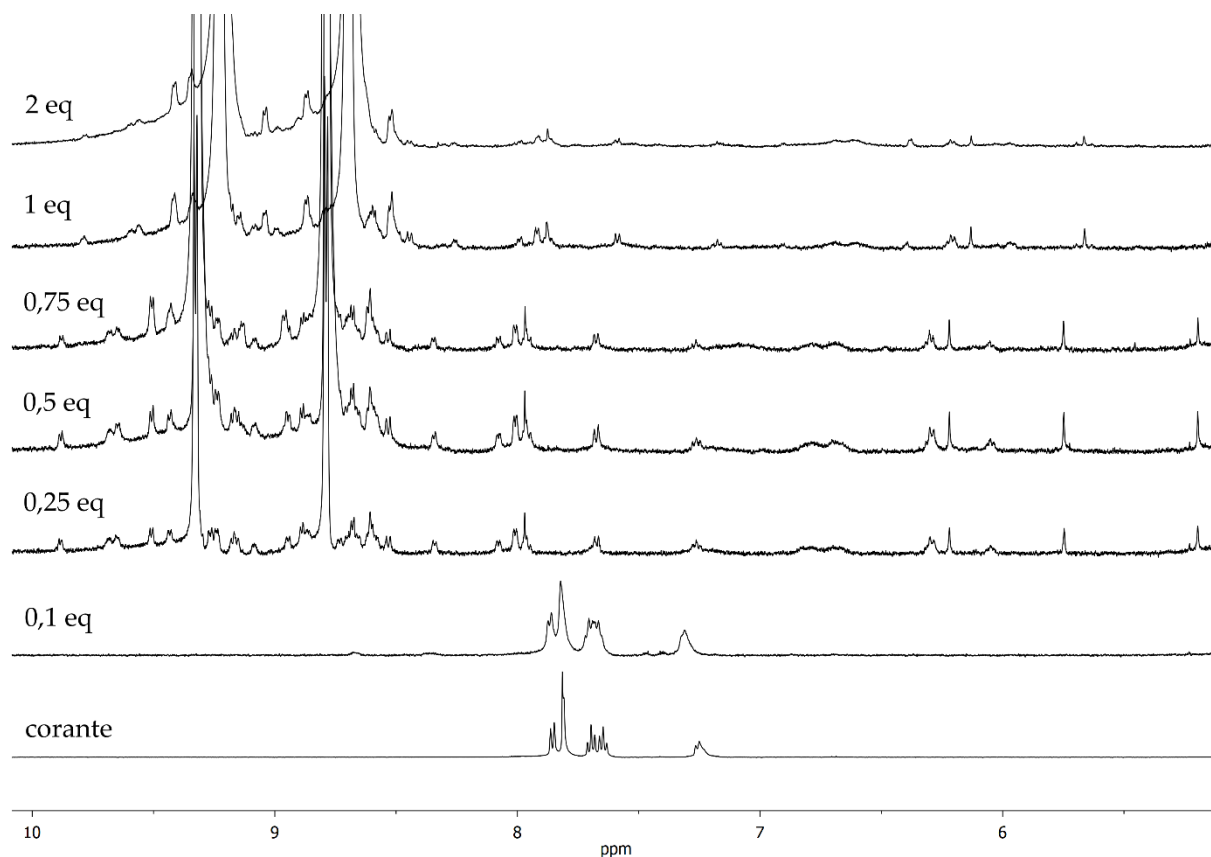


Figura 3.18 - Ampliação na zona dos 5-10 ppm da titulação da Figura 3.16.

No caso da eosina Y o comportamento é semelhante ao observado anteriormente, com a fluoresceína. Quando se começa a adicionar *cage* à solução de corante, os picos começam a ficar menos afilados, mas ao contrário da titulação por fluoresceína, com a eosina Y só se começam a notar os picos correspondentes à *cage* havendo em solução 0,25 eq desta. Da adição de 0,1 para 0,25 eq de *cage* é onde há maiores mudanças, e possivelmente grande parte do corante é encapsulado. No espetro da adição de 0,25 eq de *cage* começam a aparecer os picos referentes à *cage* de paládio como comprova a Figura A4 em anexo. Mais uma vez ocorre a mudança de ambiente químico dos prótons da *cage* comprovado pelo desdobramento dos vários picos desta, na zona de 9 ppm.

E por fim titulou-se também com o corante eritrosina B. Neste caso seguiram-se as mesmas condições do meio reacional como nos outros métodos quantitativos.

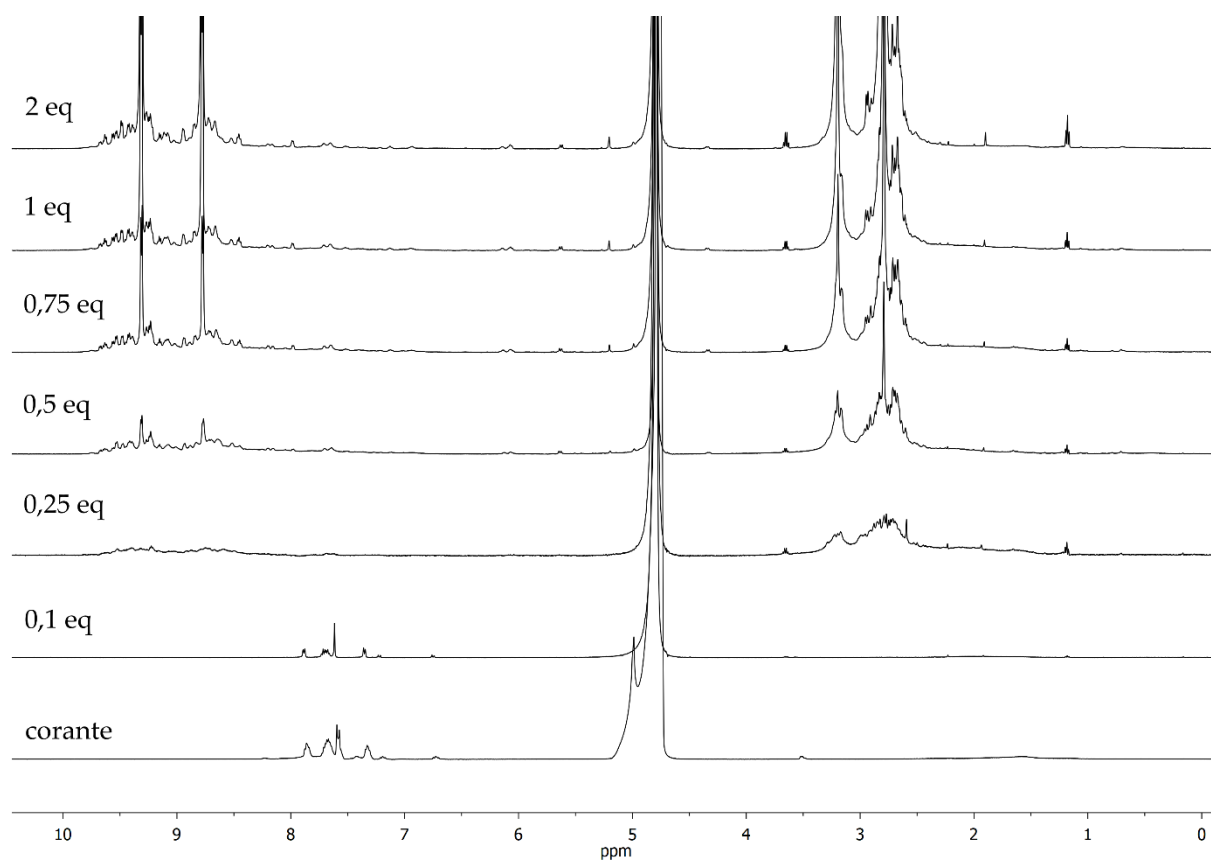


Figura 3.19 - Titulação da cage Pd_6L_4 com Eritrosina B (500 MHz, D_2O) com a quantidade de cage em cada espectro.

Para uma análise ao corante, está na Figura 3.20 o seu espectro de 1H RMN, sendo que a versão completa se encontra na Figura A8 em anexo.

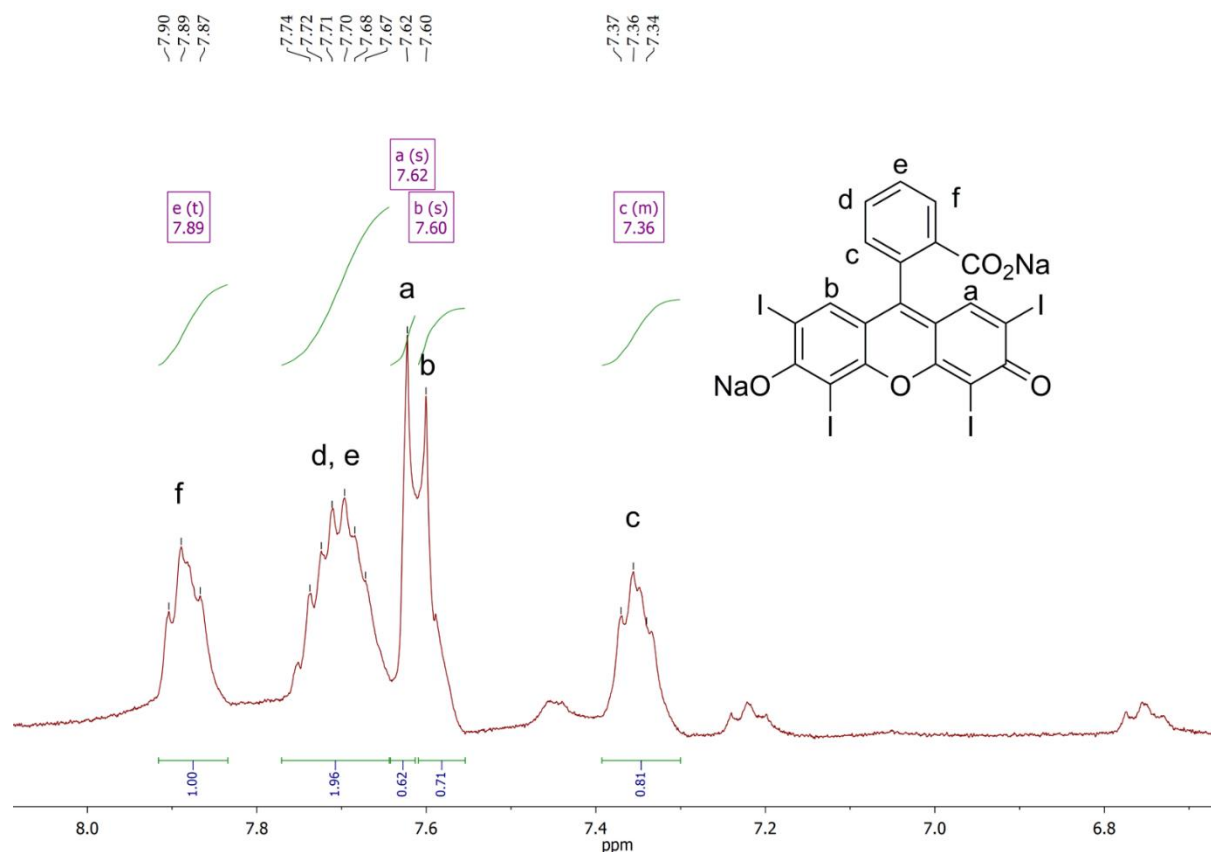


Figura 3.20 - Espectro de ^1H RMN do corante Eritrosina B, ampliado de 6,7-8 ppm (500 MHz, D_2O)

Neste caso foi possível atribuir a maior parte dos prótons do corante, exceto os prótons nomeados de d e e, devido aos seus tripletos estarem praticamente sobrepostos. Este espectro tem muitas semelhanças com o que foi mostrado da eosina Y, na Figura 3.17, o que é expectável, visto única diferença entre estes dois corante é a substituição do bromo por iodo. Neste espectro da eritrosina B há que reparar a presença de picos mais alargados comparando com a eosina Y.

Na Figura 3.21 está a ampliação os espectros que mostram as interações *cage*:corante.

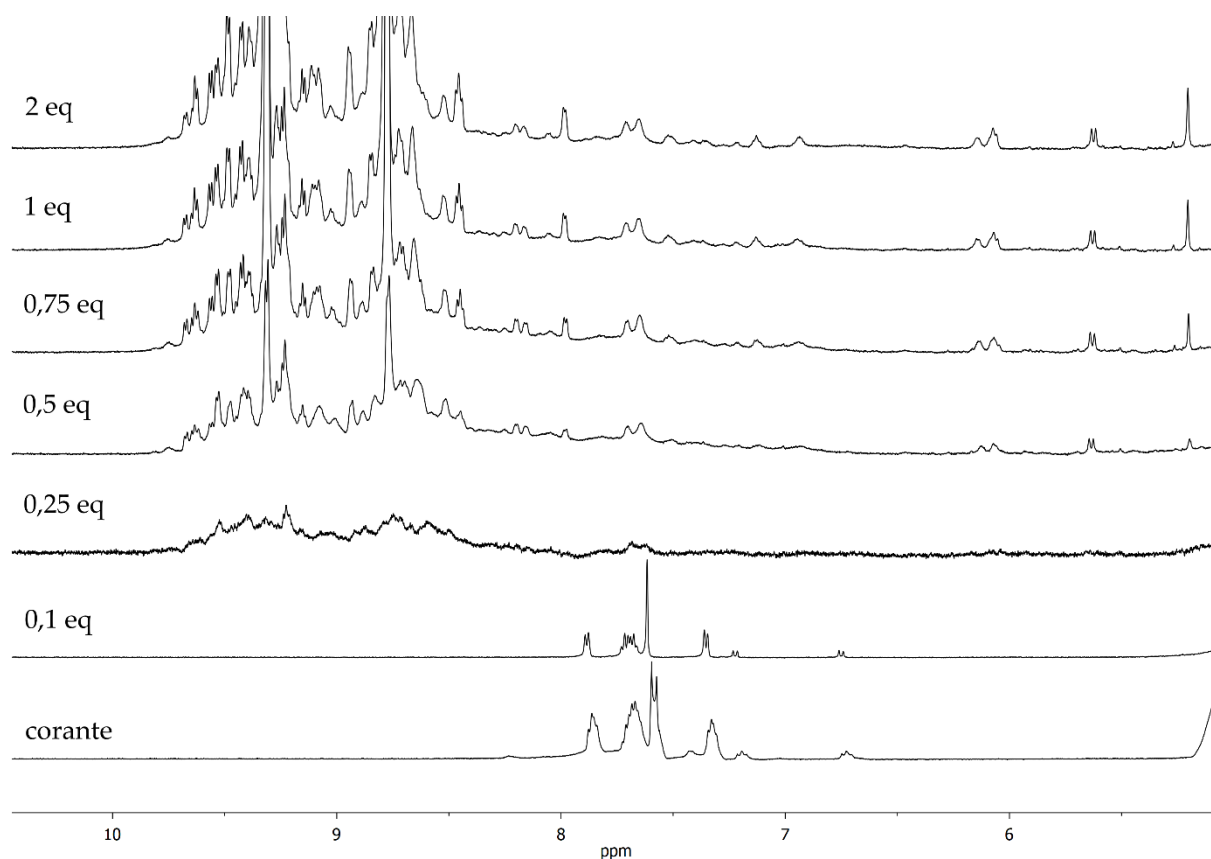
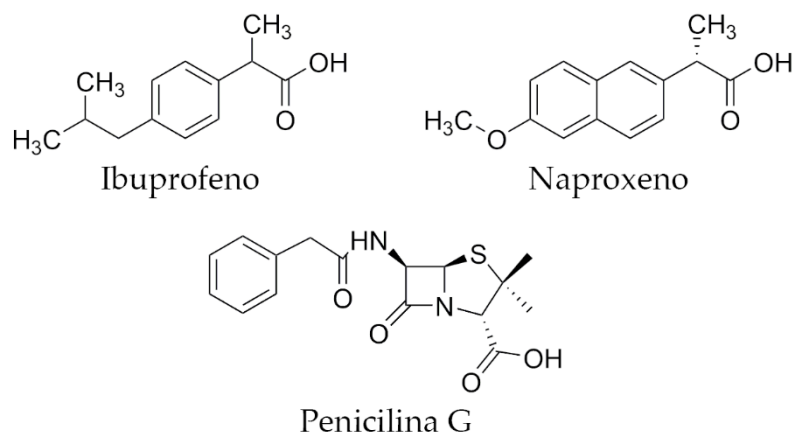


Figura 3.21 - Ampliação na zona dos 5-10 ppm da titulação da Figura 3.19.

Semelhante à titulação por RMN do corante eosina Y, com a eritrosina B não se observam os picos dos prótons da *cage* a 0,1 eq desta adicionados. Após a adição de 0,25 equivalentes de *cage*, apesar de que neste caso não há ainda predominância dos picos relativos à cápsula de coordenação, já se começam a notar. Repara-se também a supressão do sinal referendo aos prótons a e b da eritrosina B, como demonstrado na Figura 3.20. Como ocorre a entrada de um composto na cavidade da *cage* há, como seria expectável, o desdobramento dos picos dos prótons desta. Mais uma vez a cápsula de coordenação, há medida que um composto, neste caso a eritrosina B entra na sua cavidade, vão aparecendo os 24 picos da *cage*, que se desdobram devido às interações do corante com a cápsula.

3.3.4. Estudos com Fármacos

Após comprovar que os sensores com os corantes fluoresceína, eosina Y e eritrosina B são adequados para a encapsulação de moléculas, foram utilizados para testar alguns fármacos comuns e habitualmente presentes nas águas. As suas estruturas moleculares estão esquematizadas abaixo.



Esquema 3.7 - Estruturas moleculares dos fármacos em estudo neste trabalho.⁶⁰

Começando pela fluoresceína, nestes estudos com fármacos foram feitas as titulações com o conceito semelhante que as relatadas anteriormente. Em uma cuvette colocou-se corante e *cage*, cada um deles com concentração definida. Numa segunda cuvette colocou-se a mesma concentração de corante e *cage* e ainda o fármaco em estudo. Adicionaram-se assim pequenas quantidades da solução que continha o fármaco à cuvette que apresentava em solução apenas *cage* e corante.

Inicialmente, titulou-se o ibuprofeno com o sensor supramolecular Pd₆L₄:Fluoresceína. Os resultados estão representados de seguida.

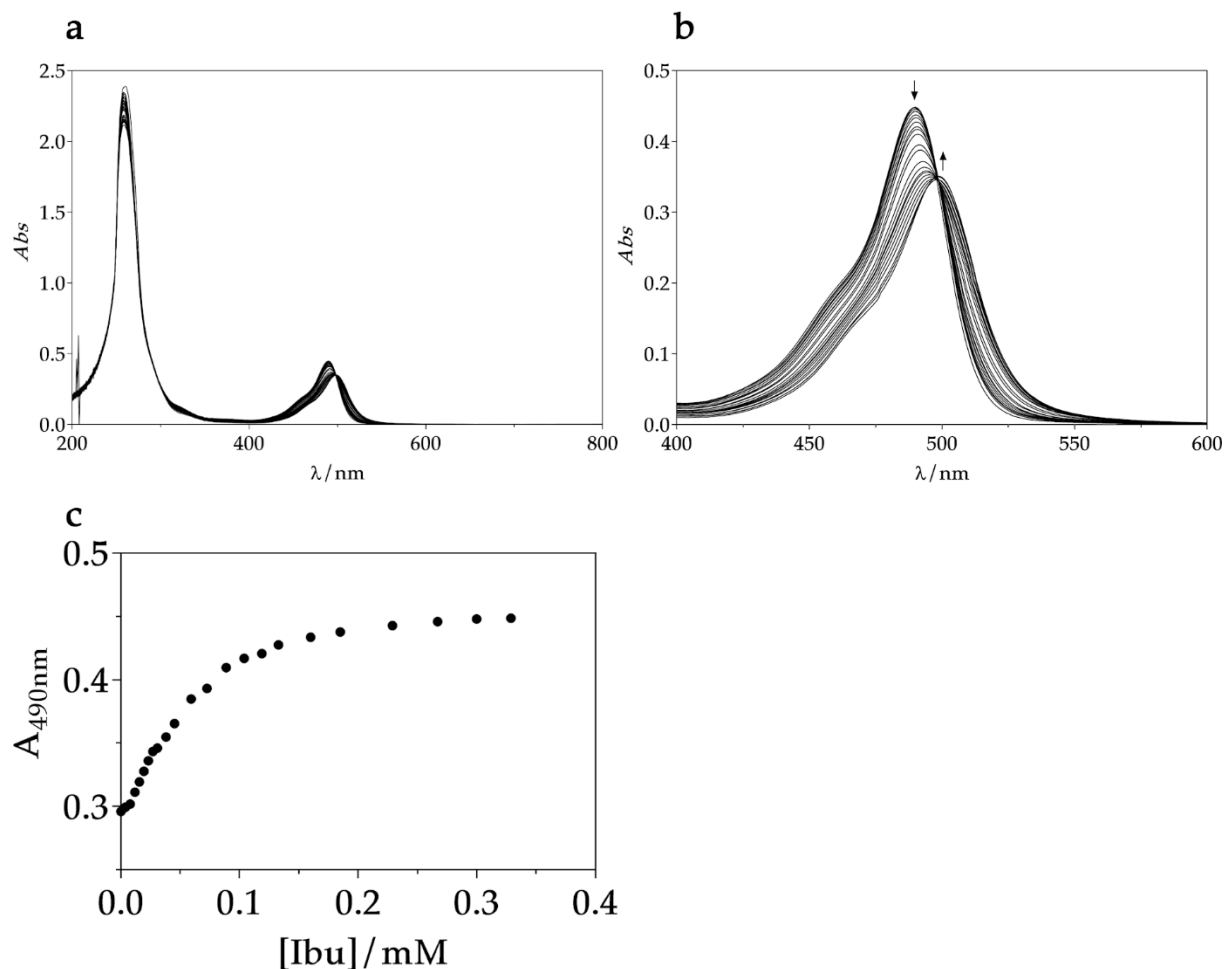


Figura 3.22 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Ibuprofeno com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,01 mM): Cage Pd₆L₄ (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). (b) Ampliação na zona dos 400-600 nm da titulação em (a). (c) Variação da absorvância a 490 nm em função da concentração de cage.

Ao contrário das titulações onde não se utilizou fármaco, neste caso, com a adição de fármaco a absorvância aumenta. Desta vez o corante está encapsulado na *cage* e quando o sensor é exposto ao fármaco, o corante sai da *cage* e entra o fármaco. Com a saída do corante para o meio, a absorvância vai aumentando. E este comportamento está representado no gráfico (c) da Figura 3.22, com o aumento da absorvância e a sua estabilização a concentrações de fármaco mais elevadas, pode-se relatar que ocorre a encapsulação do fármaco.

Quando se fez a mesma titulação, só que seguida por fluorescência, os resultados obtidos foram bastante positivos.

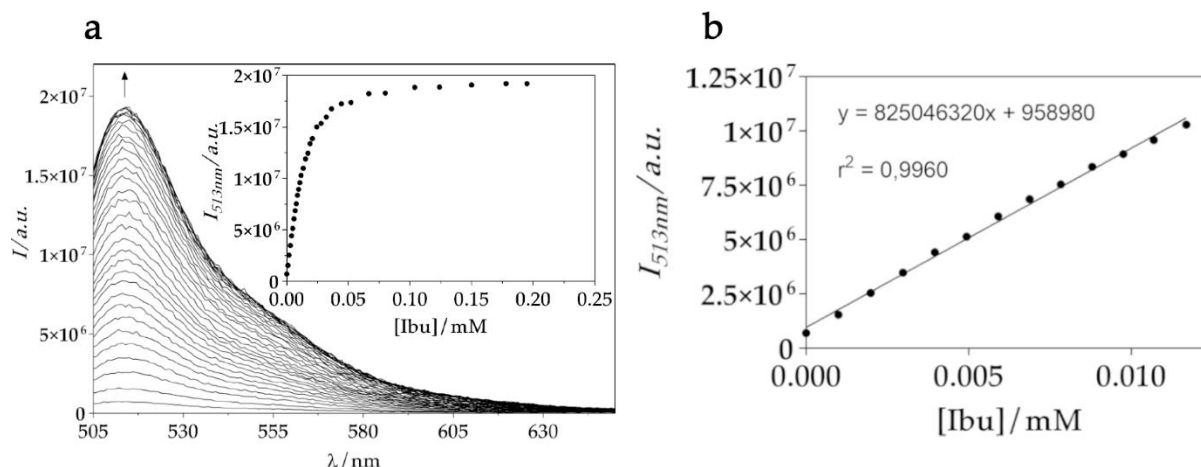


Figura 3.23 - (a) Titulação seguida por fluorescência do Ibuprofeno com complexo de inclusão Fluoresceína (0,002 mM): Cage Pd₆L₄ (0,0015 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{exc}=499$ nm. Inset que representa a variação da intensidade a 513 nm em função da concentração de cage. (b) Ampliação do inset em (a) até 0.0125 mM de [Pd₆L₄] e reta traçada com a sua respetiva equação e r^2 .

Aqui a intensidade também aumenta à medida que se aumenta a concentração de fármaco e observa-se um aumento linear no início da titulação. Foi até possível traçar uma reta de regressão linear, obtendo-se um r^2 de 0,996, mostrando assim uma ótima linearidade de valores. Para um sensor supramolecular eficaz é importante que haja uma grande variação de concentrações de fármaco e variação de intensidade. No caso de haver uma grande variação dos valores de concentração de fármaco e uma fraca variação nos valores de intensidade, faz com que os valores de intensidade sejam semelhantes para concentrações diferentes, ou seja torna-se assim um sensor indesejável. Observando assim o gráfico (b) da Figura 3.23, pode-se considerar este um sensor supramolecular eficaz.

De seguida, fizeram-se titulações em semelhantes condições às titulações anteriores, só que o fármaco utilizado foi o naproxeno.

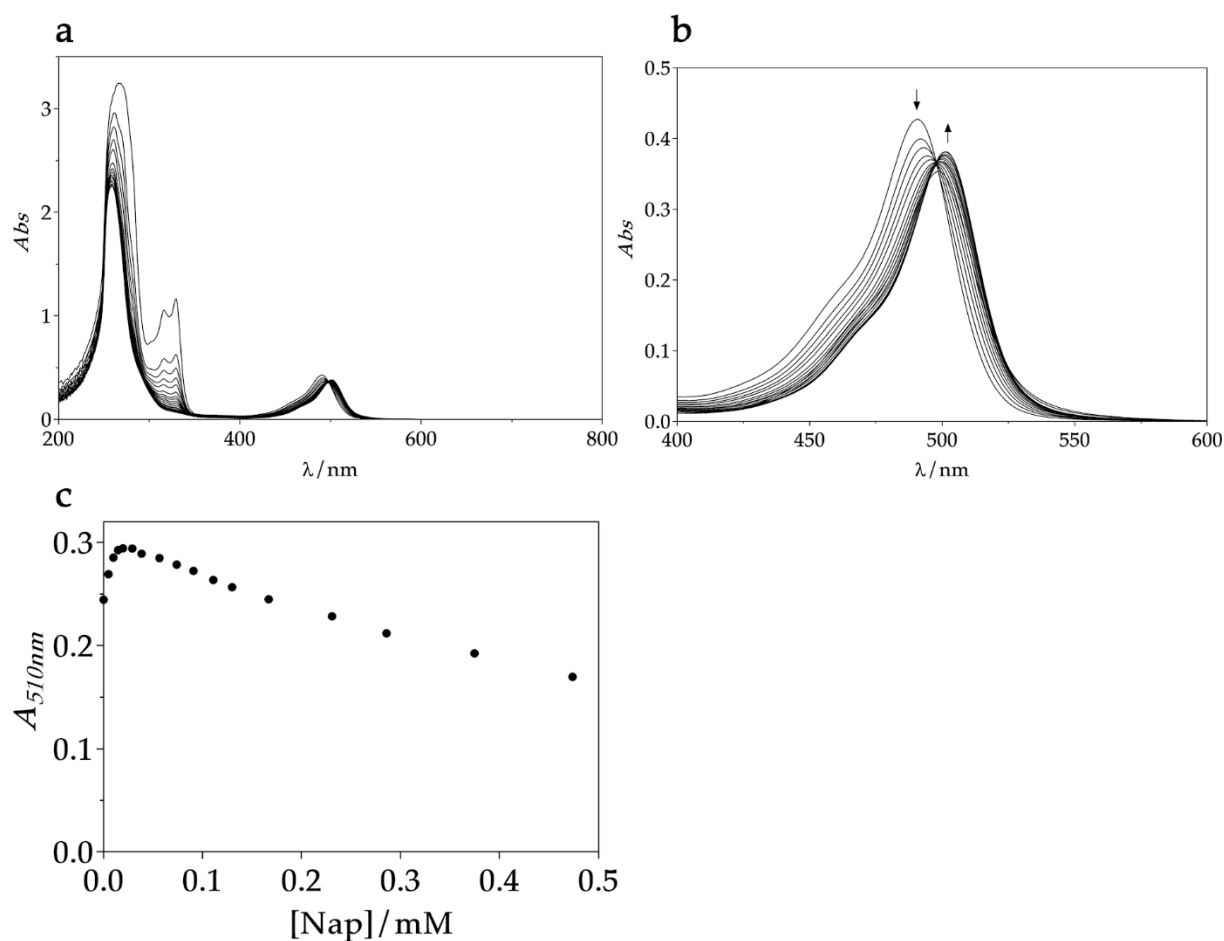


Figura 3.24 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Naproxeno com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,1 μ M): Cage Pd₆L₄ (0,1 μ M) em tampão fosfato (10 mM). (b) Ampliação na zona dos 400-600nm da titulação em (a). (c) Variação da absorvância a 510 nm em função da concentração de cage.

Por ultravioleta-visível os resultados não foram satisfatórios, pois observou-se uma subida na absorvância seguida por um decréscimo. Pode significar um encapsulamento parcial do fármaco, e visto que a absorvância diminui, pode ter ocorrido a encapsulação do corante novamente.

Por fluorescência os resultados estão representados na seguinte figura.

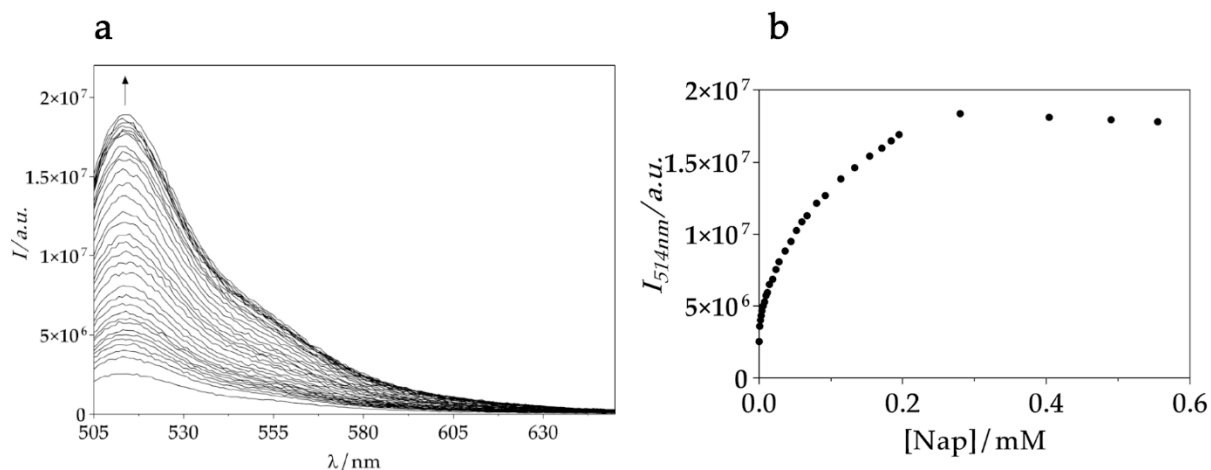


Figura 3.25 - (a) Titulação seguida por fluorescência do Naproxeno com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,002 mM): Cage Pd₆L₄ (0,0015 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{exc}=499$ nm. (b) Variação da intensidade a 514 nm em função da concentração de cage.

Neste caso obtiveram-se melhores resultados, no caso da encapsulação do fármaco com a subida dos valores de intensidade. Como não há coerência nos resultados obtidos pelos diferentes métodos espectroscópicos, não se pode concluir que o sensor cage:fluoresceína seja eficaz na encapsulação do naproxeno.

Por fim, utilizando novamente o sensor cage:fluoresceína testou-se com o fármaco penicilina.

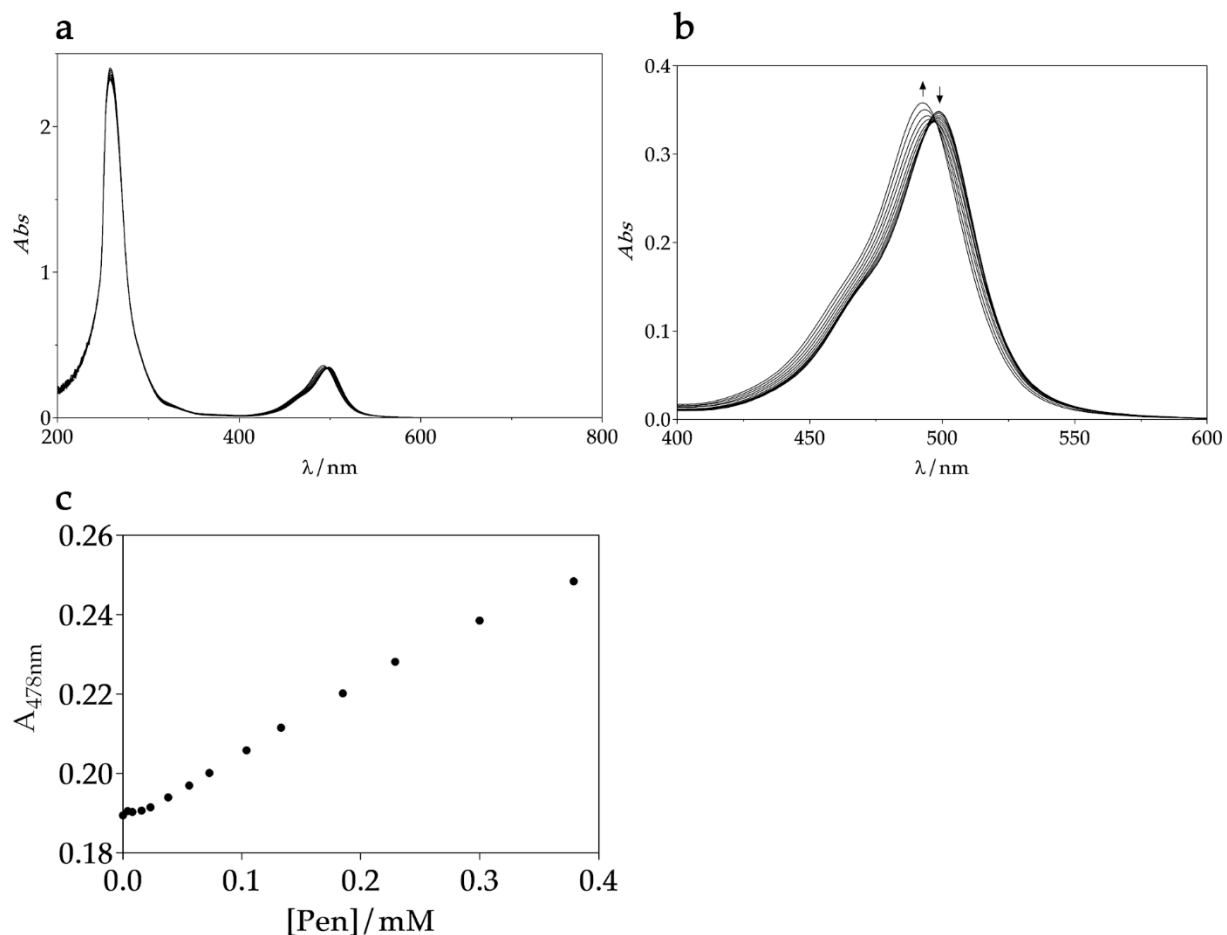


Figura 3.26 - (a) Titulação seguida por UV-Vis da Penicilina com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,01 mM): Cage Pd₆L₄ (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). (b) Ampliação na zona dos 400-600 nm da titulação em (a). (c) Variação da absorvância a 478 nm em função da concentração de cage

No caso da penicilina, observa-se um aumento da absorvância, mas não se obteve um patamar constante da absorvância. Para se poder tirar conclusões acerca deste sensor é preciso repetir a titulação e utilizarem-se concentrações maiores de fármacos.

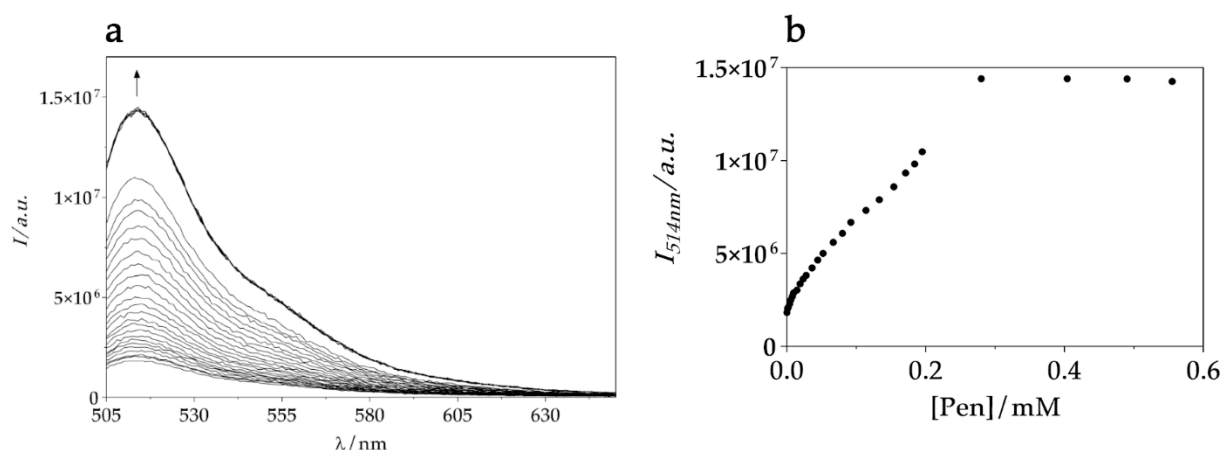


Figura 3.27 - (a) Titulação seguida por fluorescência da Penicilina com o complexo de inclusão Fluoresceína (0,002 mM): Cage Pd_6L_4 (0,0015 mM) em tampão fosfato (10 mM); $\lambda_{exc}=499$ nm. (b) Variação da intensidade a 514 nm em função da concentração de cage.

No caso da fluorescência a titulação também terá de ser repetida. Os últimos quatro pontos representam penicilina em excesso, só que não foram feitos no decorrer da titulação e sim com um tempo de intervalo, influenciando o resultado final. É provável que ao se repetir a titulação se obtenham valores de intensidade constantes com excesso de fármaco. no decorrer na titulação.

No caso dos corantes eosina Y e eritrosina B foram feitas apenas titulações com o ibuprofeno em espectroscopia de fluorescência, como está descrito nas seguintes figuras.

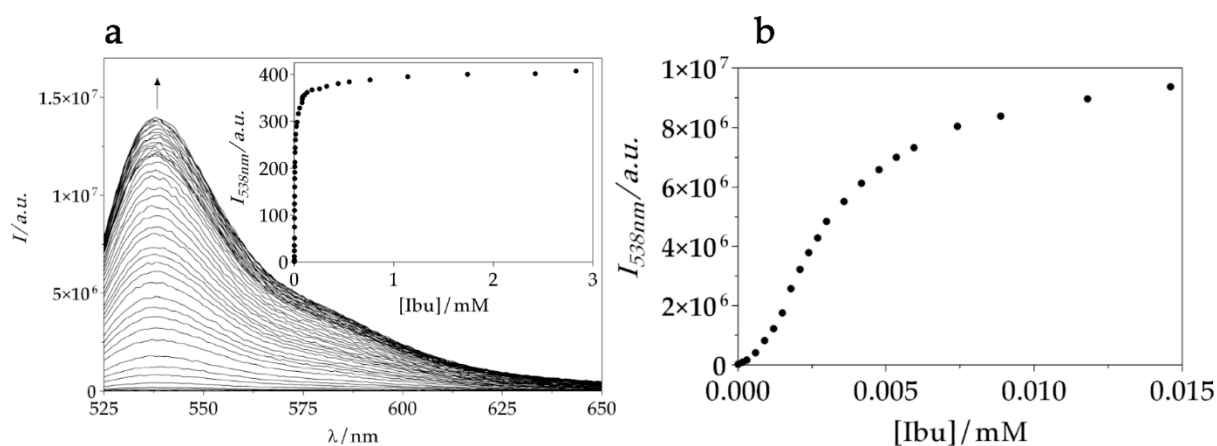


Figura 3.28 - (a) Titulação seguida por fluorescência do Ibuprofeno (em solução de tampão fosfato) (0,6 mM) com o complexo de inclusão Eosina Y (0,001 mM): Cage Pd_6L_4 (0,001 mM); $\lambda_{exc}=520$ nm; Inset representativo da variação da intensidade a 538 nm em função da concentração de fármaco. (b) Ampliação do inset em (a) até concentrações de fármaco de 0,015 mM.

Os resultados obtidos por fluorescência mostram uma subida constante nos valores da intensidade e comparando com a titulação onde o corante utilizado foi a fluoresceína, notam-se semelhanças entre ambos. Neste caso também existe um intervalo de concentrações de fármaco onde há linearidade, mas neste caso, o espectro tem uma forma do tipo sigmoidal, diferente no caso da fluoresceína. Este é também um bom sinal de que este sensor encapsula o ibuprofeno, mas o comportamento da encapsulação é distinto.

Por último testou-se a eritrosina B, nas mesmas condições às da eosina Y.

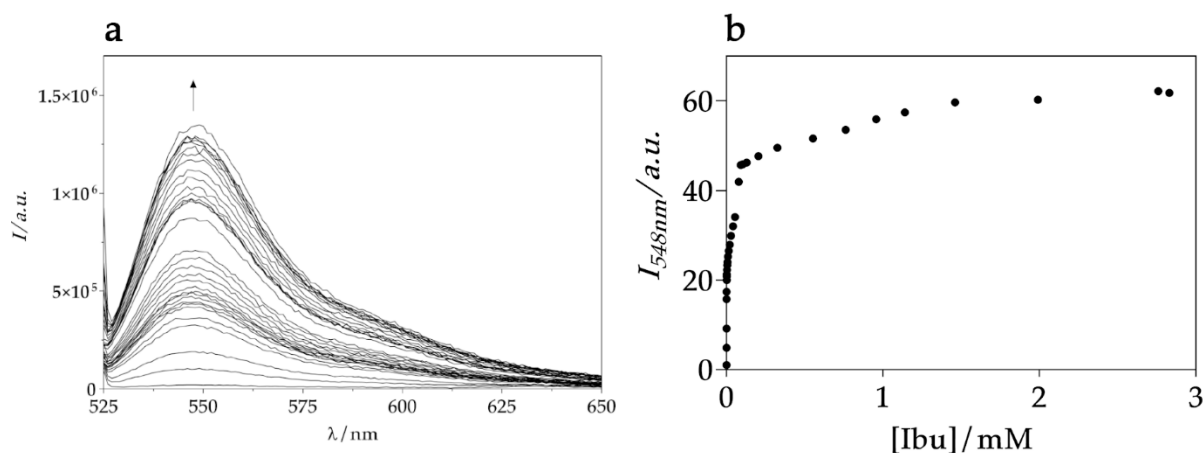


Figura 3.29 - (a) Titulação em fluorescência do complexo de inclusão Eritrosina B ($0,35 \mu M$): Cage Pd_6L_4 ($0,35 \mu M$) com Ibuprofeno (em solução de tampão fosfato) ($0,6 mM$); $\lambda_{exc}=520 nm$. (b) Variação da intensidade a 548 nm em função da concentração de fármaco.

Este corante dá bons indícios de que é útil para formar encapsular, juntamente com a cage o ibuprofeno, mas para resultados mais consistentes pode ser necessário repetir esta titulação.

Apesar de os resultados não terem sido muito promissores, tais como observados anteriormente, testou-se o corante violeta de pirocatecol com ibuprofeno e naproxeno.

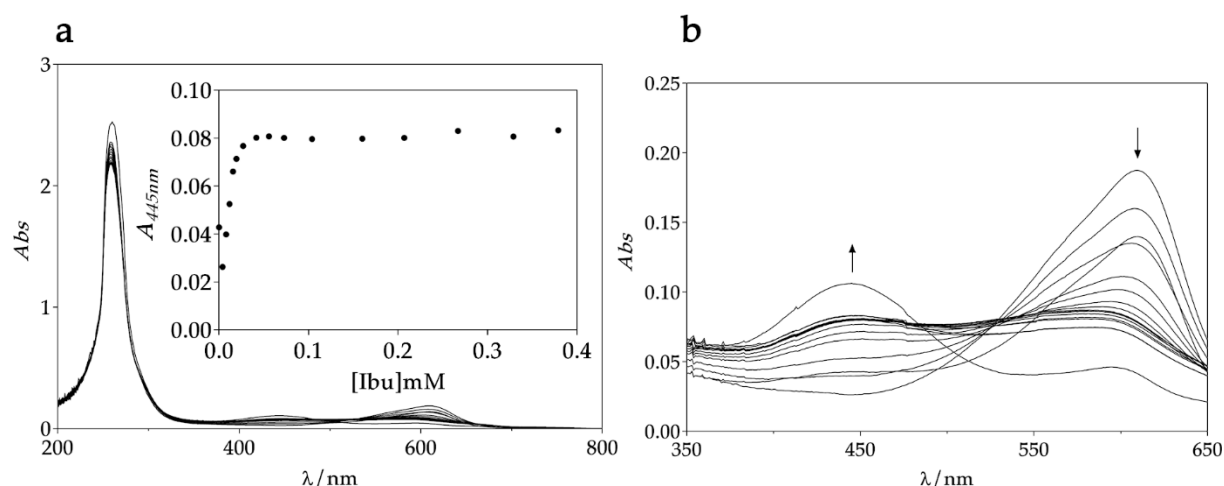


Figura 3.30 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Ibuprofeno com o complexo de inclusão Violeta de Pirocatecol (0,01 mM): Cage Pd₆L₄ (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset representa a variação da absorvância a 445 nm em função da concentração de fármaco. (b) Ampliação na zona dos 350-650 nm da titulação em (a).

Com o fármaco ibuprofeno observou-se encapsulação do fármaco no sensor supramolecular, como se observa pelo *inset* da alínea (a), Figura 3.30 havendo uma estabilização da absorvância, mas o gráfico (b) da Figura 3.30 não representa variações constantes nos valores de absorvância e ainda a ausência de um ponto isobéstico.

Fez-se outro teste com o mesmo sensor supramolecular, só que desta vez substituiu-se o fármaco ibuprofeno por naproxeno.

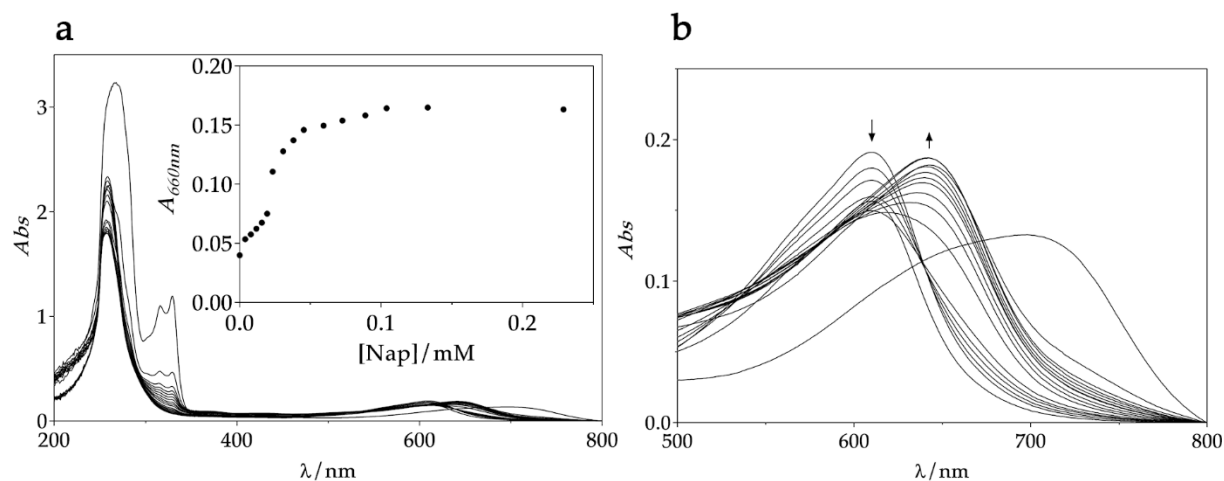


Figura 3.31 - (a) Titulação seguida por UV-Vis do Naproxeno com o complexo de inclusão Violeta de Pirocatecol (0,01 mM): Cage Pd₆L₄ (0,01 mM) em tampão fosfato (10 mM). Inset representa a variação da absorvância a 660 nm em função da concentração de fármaco. (b) Ampliação na zona dos 500-800 nm da titulação em (a).

Na Figura 3.31 observam-se resultados muito semelhantes aos da titulação do ibuprofeno, com a estabilização da absorvância a maiores concentrações de naproxeno e

de novo no gráfico (b) há uma inconsistência nos valores obtidos e a ausência do ponto isosbético.

4

Conclusões

Concluído este trabalho e olhando para os resultados obtidos pode-se concluir a eficácia desta cápsula de coordenação, quando conjugada com os corantes mais promissores: fluoresceína, eosina Y e eritrosina B. A escolha da cápsula de coordenação recaiu sobre a promessa que esta oferecia, exemplificada em alguns artigos. O facto de ser solúvel em água é um importante aspeto a considerar, tendo em conta o problema mostrado neste trabalho.

Os corantes que melhores resultados obtiveram foram a fluoresceína, eosina Y e eritrosina B. Consoante os testes feitos, estes sensores supramoleculares têm a possibilidade de quantificar e remover compostos que encapsulam. No caso dos corantes iniciais muitos deles mostraram-se insuficientes devido, essencialmente ao seu tamanho e cadeias carbonadas longas ou grupos volumosos impedindo o encapsulamento completo destes. Muitos desses corantes tinham grupos iónicos, podendo interagir ionicamente com a *cage* ou até mesmo destruí-la. Há também testes que ilustram a viabilidade deste sensor supramolecular ao encapsular fármacos, apesar de que nem todos vão conseguir ser encapsulados. Neste trabalho foi possível confirmar a boa encapsulação do ibuprofeno.

Como seguimento aos estudos apresentados neste trabalho, é relevante testar o sensor supramolecular com mais fármacos de interesse, para verificar a sua abrangência. Um bom ponto de partida será verificar os contaminantes mais comuns que se encontram nas águas tratadas pelas ETAR e testar a sua eficácia. Tem de existir um afinamento deste sensor e testar fármacos de estrutura molecular semelhante ao ibuprofeno, ou com maior predominância de grupos aromáticos, como é o caso dos corantes fluoresceína, eosina Y e eritrosina B.

Após um estudo de maior cobertura sobre os fármacos, é preciso estudar a abordagem da cápsula de coordenação com as MOFs, de modo a conceber uma rede de cápsula de coordenação, para posteriormente serem utilizadas como encapsuladoras das diversas moléculas dos poluentes em questão.

Tendo em vista a reutilização do mecanismo é preciso encontrar forma de desencapsular os fármacos, onde serão tratados devidamente consoante o seu perigo para o ambiente, para que estas redes possam repetir o processo o máximo de vezes possível, até comprometer a eficácia da encapsulação dos poluentes

Bibliografia

- 1 Y. Maréchal, *The Hydrogen Bond and the Water Molecule*, Elsevier B.V., 1st Ed., 2007.
- 2 F. Ghassemi and I. White, *Inter-Basin Water Transfer: Case Studies from Australia, United States, Canada, China and India*, Cambridge University Press, New York, 2007.
- 3 I. A. Shiklomanov, in *Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources*, ed. P. H. Gleick, Oxford University Press, New York, 1993, pp. 13–24.
- 4 R. Hreiz, M. A. Latifi and N. Roche, *Chem. Eng. J.*, 2015, **281**, 900–920.
- 5 S. Judd and C. Judd, *The MBR Book: Principles and Applications of Membrane Bioreactors for Water and Wastewater Treatment*, Elsevier, 2nd edn., 2011.
- 6 C. Rorres, *J. Hydraul. Eng.*, 2000, **126**, 72–80.
- 7 H. Ou and E. Y. Zeng, *Occurrence and fate of microplastics in wastewater treatment plants*, Elsevier Inc., 2018.
- 8 M. Anjum, N. H. Al-Makishah and M. A. Barakat, *Process Saf. Environ. Prot.*, 2016, **102**, 615–632.
- 9 A. J. Englande Jr., P. Krenkel and J. Shamas, *Wastewater Treatment & Water Reclamation*, Elsevier Inc., 2015.
- 10 N. Bolong, A. F. Ismail, M. R. Salim and T. Matsuura, *Desalination*, 2009, **239**, 229–246.
- 11 L. Prieto-Rodriguez, S. Miralles-Cuevas, I. Oller, A. Agüera, G. L. Puma and S. Malato, *J. Hazard. Mater.*, 2012, **211–212**, 131–137.
- 12 T. Heberer, A. Mechliniski, B. Fanck, A. Knappe, G. Massmann, A. Pekdeger and B. Fritz, *Gr. Water Monit. Remediat.*, 2004, **24**, 70–77.
- 13 I. M. Verstraeten, G. S. Fetterman, M. J. Meyer, T. Bullen and S. K. Sebree, *Gr. Water Monit. Remediat.*, 2005, **25**, 107–117.
- 14 K. Kümmerer, *Chemosphere*, 2001, **45**, 957–969.

- 15 L. S. Shore and M. Shemesh, *Pure Appl. Chem.*, 2003, **75**, 1859–1871.
- 16 W. P. Eckel, B. Ross and R. K. Isensee, *Groundwater*, 1993, **31**, 801–804.
- 17 I. J. Buerge, H. R. Buser, M. Kahle, M. D. Müller and T. Poiger, *Environ. Sci. Technol.*, 2009, **43**, 4381–4385.
- 18 D. J. Lapworth, N. Baran, M. E. Stuart and R. S. Ward, *Environ. Pollut.*, 2012, **163**, 287–303.
- 19 S. Rojas and P. Horcajada, *Chem. Rev.*, , DOI:10.1021/acs.chemrev.9b00797.
- 20 A. Casini, B. Woods and M. Wenzel, *Inorg. Chem.*, 2017, **56**, 14715–14729.
- 21 M. Fujita, D. Oguro, M. Miyazawa, H. Oka, K. Yamaguchi and K. Ogura, *Nature*, 1995, **378**, 469–471.
- 22 D. J. Cram, *Nature*, 1992, **356**, 29–36.
- 23 S. R. Seidel and P. J. Stang, *Acc. Chem. Res.*, 2002, **35**, 972–983.
- 24 S. Torquato and Y. Jiao, *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, 2009, **80**, 1–21.
- 25 M. J. Wenninger, *Polyhedron Models*, Cambridge University Press, New York, 1971.
- 26 V. J. Hill and P. Rowlands, *AIP Conf. Proc.*, 2008, **1051**, 117–126.
- 27 A. Schmidt, A. Casini and F. E. Kühn, *Coord. Chem. Rev.*, 2014, **275**, 19–36.
- 28 T. R. Cook, Y. R. Zheng and P. J. Stang, *Chem. Rev.*, 2013, **113**, 734–777.
- 29 J. H. Rayner and H. M. Powell, *J. Chem. Soc.*, 1952, 319–328.
- 30 D. Kumar Chand, M. Fujita, K. Biradha, S. Sakamoto and K. Yamaguchi, *J. Chem. Soc. Dalt. Trans.*, 2003, **3**, 2750–2756.
- 31 D. K. Chand, K. Biradha and M. Fujita, *Chem. Commun.*, 2001, **1**, 1652–1653.
- 32 S. H. A. M. Leenders, R. Becker, T. Kumpulainen, B. de Bruin, T. Sawada, T. Kato, M. Fujita and J. N. H. Reek, *Chem. - A Eur. J.*, 2016, **22**, 15468–15474.
- 33 T. Kusukawa and M. Fujita, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 1998, **37**, 3142–3144.
- 34 T. Kusukawa and M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, **124**, 13576–13582.
- 35 H. Yang, SuKim, S. R. Rao, S. Narayanan, E. A. Kapustin, H. Furukawa, A. S. Umans, O. M. Yaghi and E. N. Wang, *Science (80-.)*, 2017, **434**, 430–434.
- 36 F. X. Llabrés i Xamena, A. Abad, A. Corma and H. Garcia, *J. Catal.*, 2007, **250**, 294–298.
- 37 M. Safaei, M. M. Foroughi, N. Ebrahimpoor, S. Jahani, A. Omid and M. Khatami, *Trends Anal. Chem.*, 2019, **118**, 401–425.
- 38 C. C. I. Guaratini and M. V. B. Zanoni, *Quim. Nova*, 2000, **23**, 71–78.
- 39 G. Booth, H. Zollinger, K. McLaren, W. G. Sharples and A. Westwell, *Ullmann's Encycl. Ind. Chem.*, 2000, 675–729.
- 40 H. Mustroph, in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, 2014, pp. 1–38.

- 41 T. F. G. G. Cova, A. A. C. C. Pais and J. S. S. De Melo, *Sci. Rep.*, 2017, **7**, 1–9.
- 42 J. S. de Melo, S. Takato, M. Sousa, M. J. Melo and A. J. Parola, *Chem. Commun.*, 2007, 2624–2626.
- 43 O. Meth-Cohn and M. Smith, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1994, 5–7.
- 44 W. H. Perkin, *J. Chem. Soc.*, 1879, **35**, 717–732.
- 45 T. M. Goodman, in *Colour Design: Theories and Applications*, ed. J. Best, Woodhead Publishing Limited, 1st edn., 2012, pp. 177–218.
- 46 H. A. Ghazijahani, M. Abdollahzadeh, H. Seyedarabi and M. J. M. Niya, *Int. J. Inf. Commun. Technol. Res.*, 2016, **8**, 19–27.
- 47 T. L. Mako, J. M. Racicot and M. Levine, *Chem. Rev.*, 2018, **119**, 322–477.
- 48 J. Vicente, J. A. Abad, M. T. Chicote, M. D. Abrisqueta, J. A. Lorca and M. C. Ramírez De Arellano, *Organometallics*, 1998, **17**, 1564–1568.
- 49 G. R. Fulmer, A. J. M. Miller, N. H. Sherden, H. E. Gottlieb, A. Nudelman, B. M. Stoltz, J. E. Bercaw and K. I. Goldberg, *Organometallics*, 2010, **29**, 2176–2179.
- 50 H. L. Anderson, S. Anderson and J. K. M. Sanders, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 1995, 2231–2245.
- 51 P. Anastas and N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 301–312.
- 52 I. M. Steinberg, A. Lobnik and O. S. Wolfbeis, *Sensors Actuators, B Chem.*, 2003, **90**, 230–235.
- 53 S. K. Mondal, K. Sahu, P. Sen, D. Roy, S. Ghosh and K. Bhattacharyya, *Chem. Phys. Lett.*, 2005, **412**, 228–234.
- 54 X. Wang, M. Song and Y. Long, *J. Solid State Chem.*, 2001, **156**, 325–330.
- 55 M. Pessêgo, N. Basílio, J. Mendoza, J. Avó, L. Cunha-Silva, A. J. Parola and F. Pina, *RSC Adv.*, 2017, **7**, 30469–30480.
- 56 Y. F. Wei, M. X. Wu, X. R. Wei, R. Sun, Y. J. Xu and J. F. Ge, *Talanta*, 2020, **218**, 121164.
- 57 H. Nishikiori, K. Tagami, S. Matsunaga and K. Teshima, *ACS Omega*, 2019, **4**, 5944–5949.
- 58 H. Takezawa, S. Akiba, T. Murase and M. Fujita, *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, **137**, 7043–7046.
- 59 M. Chai, K. Holley and M. Kruskamp, *Chem. Commun.*, 2007, 168–170.
- 60 L. L. Du, Q. Wu, C. X. Chen, B. K. Liu and X. F. Lin, *J. Mol. Catal. B Enzym.*, 2009, **58**, 208–211.

6

Anexos

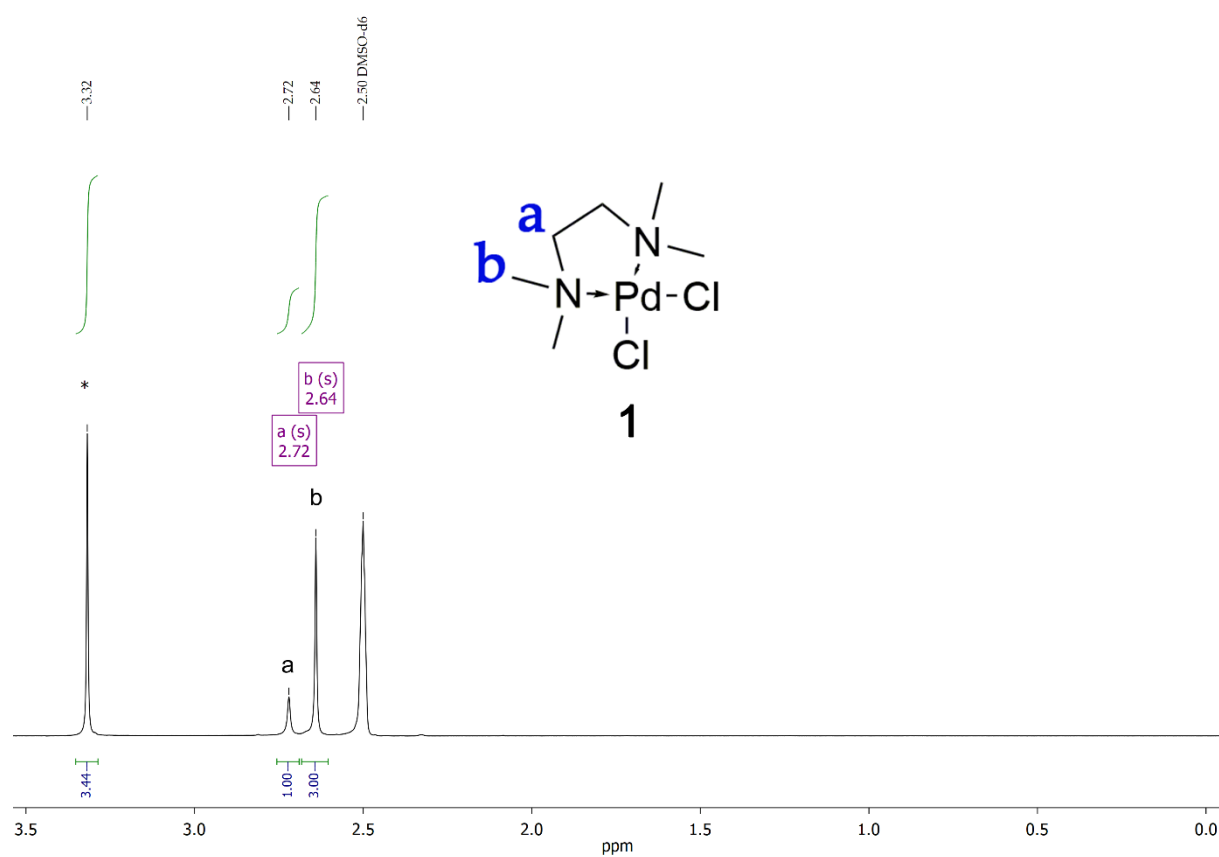


Figura A1 - Espetro de ^1H RMN do composto **1** (400 MHz, DMSO-d_6)

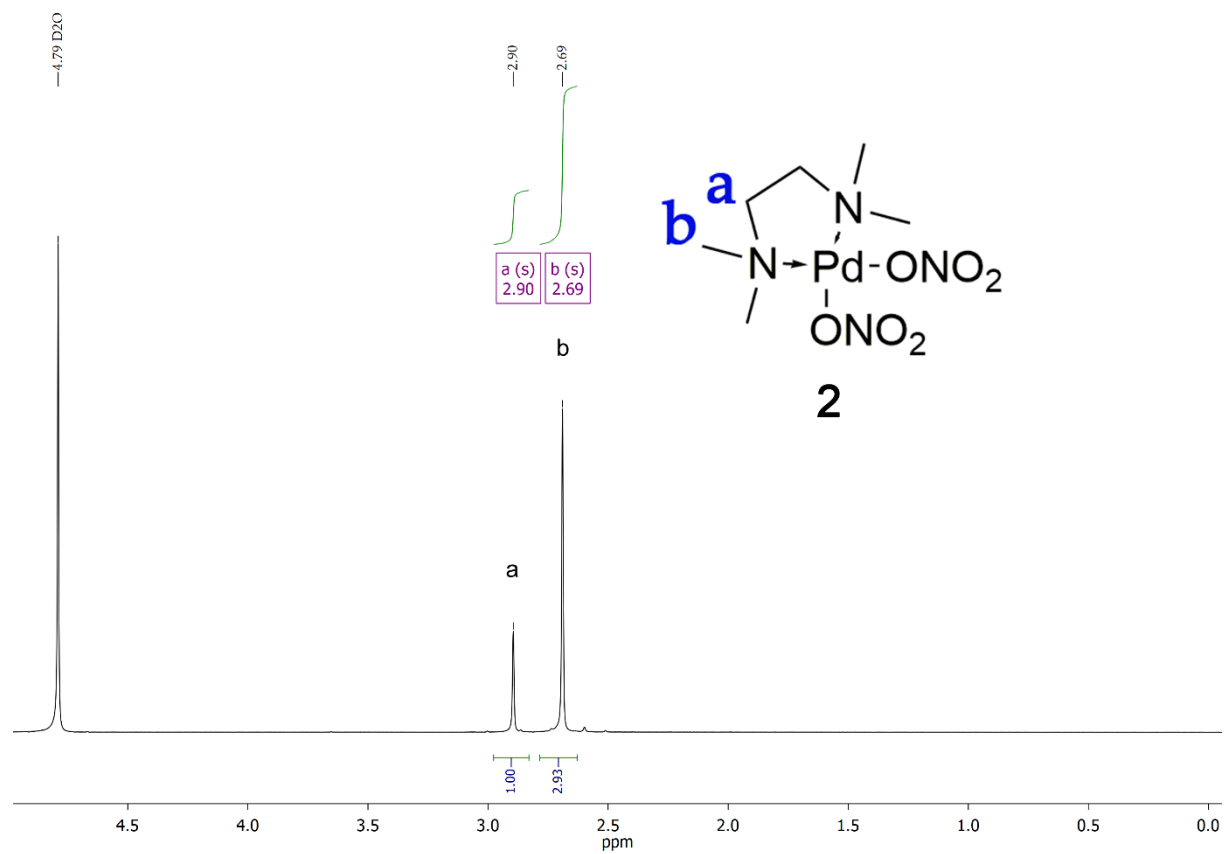


Figura A2 - Espetro de ^1H RMN do composto **2** (400 MHz, D_2O)

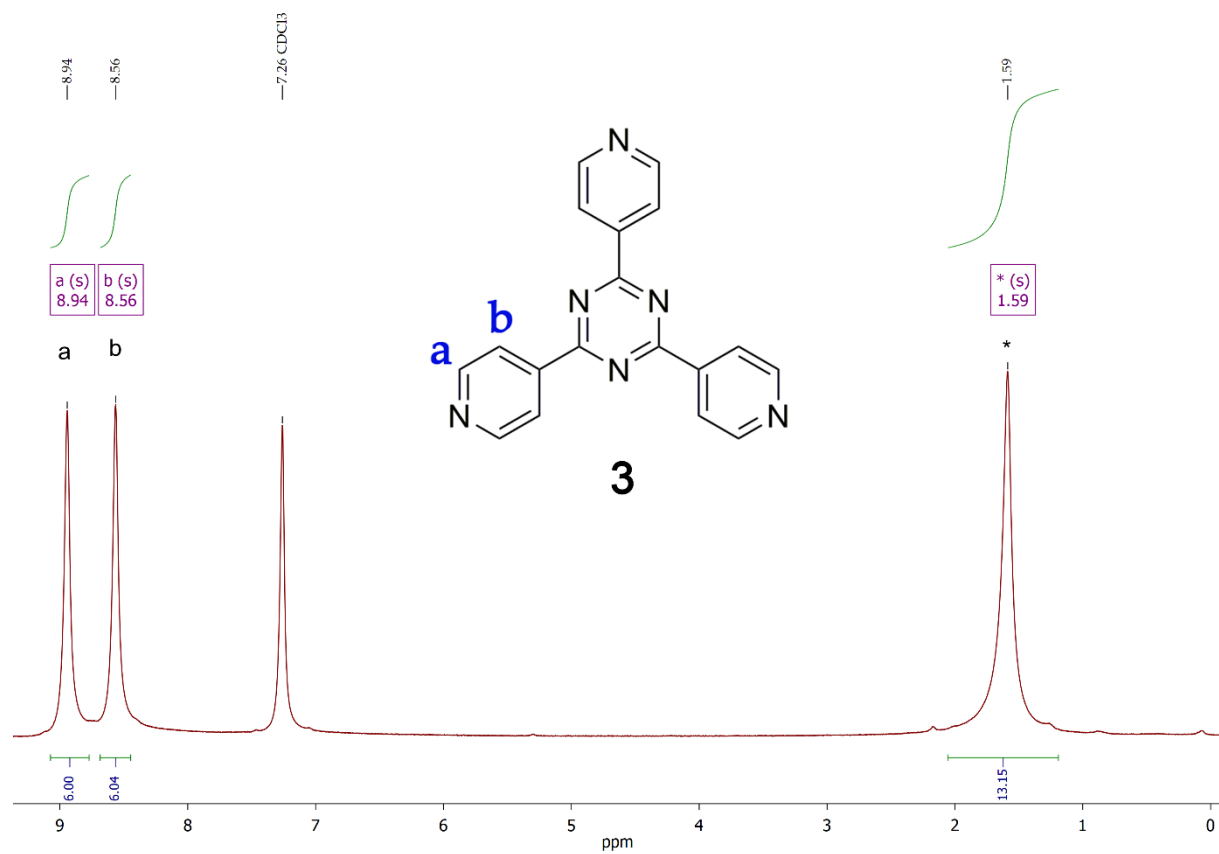


Figura A3 - Espectro de ¹H RMN do composto **3** (400 MHz, CDCl₃)

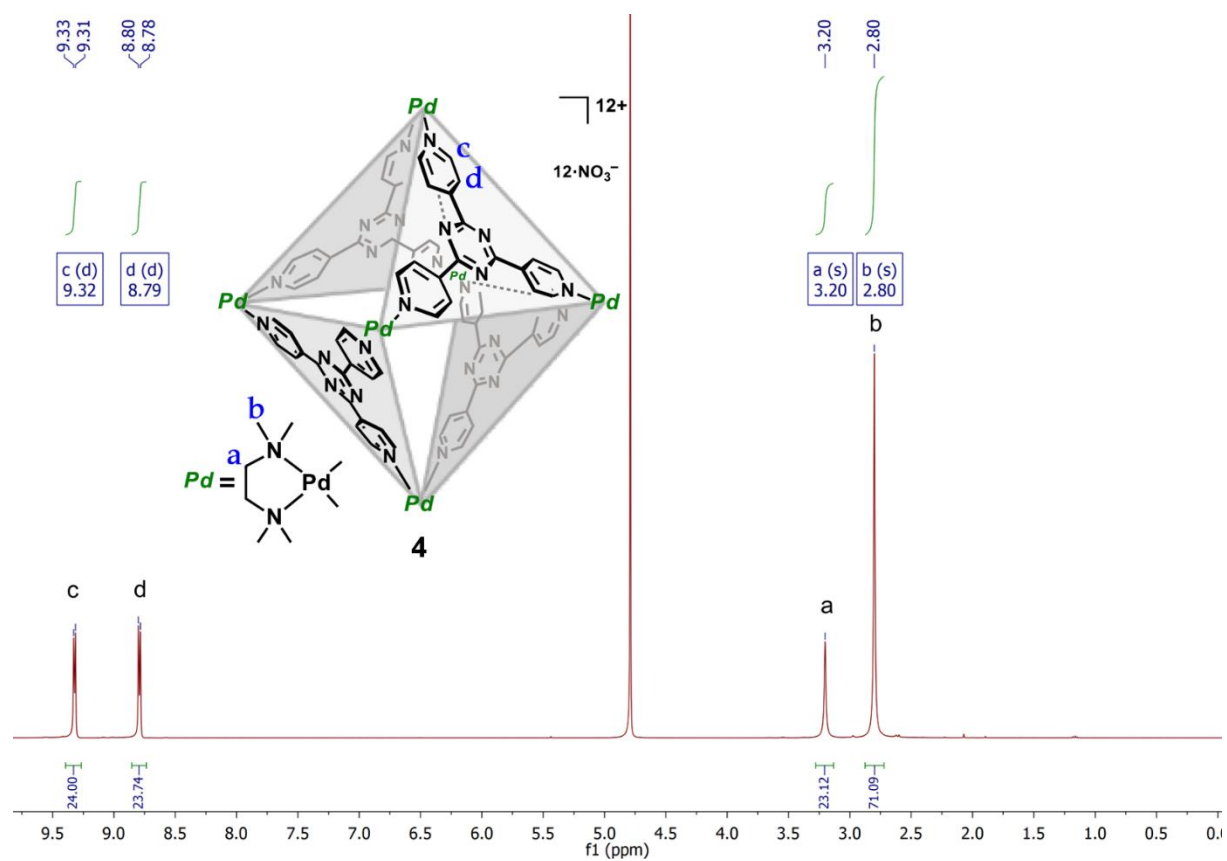


Figura A4 - Espetro de ¹H RMN do composto **4** (400 MHz, D₂O)

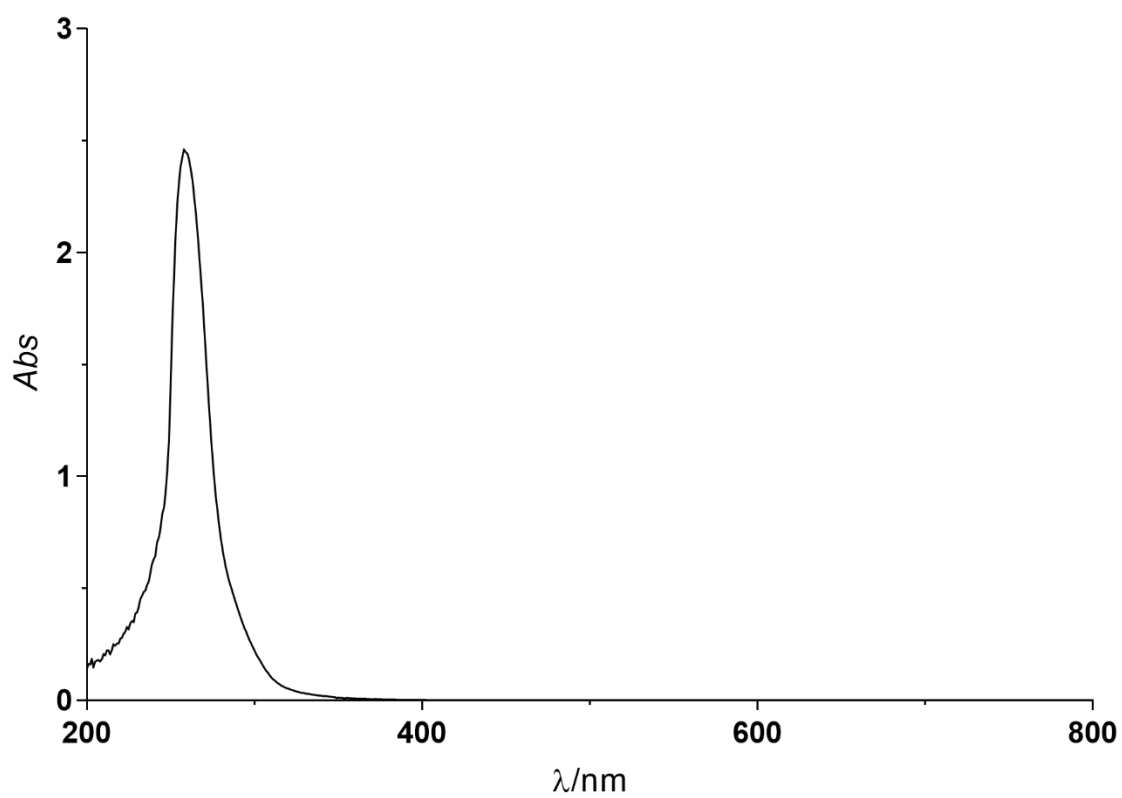


Figura A5 - Espectro UV-Vis da cage 4 (0,005 mM) em tampão fosfato (10 mM), em solvente H_2O . $T=298,15\text{ K}$

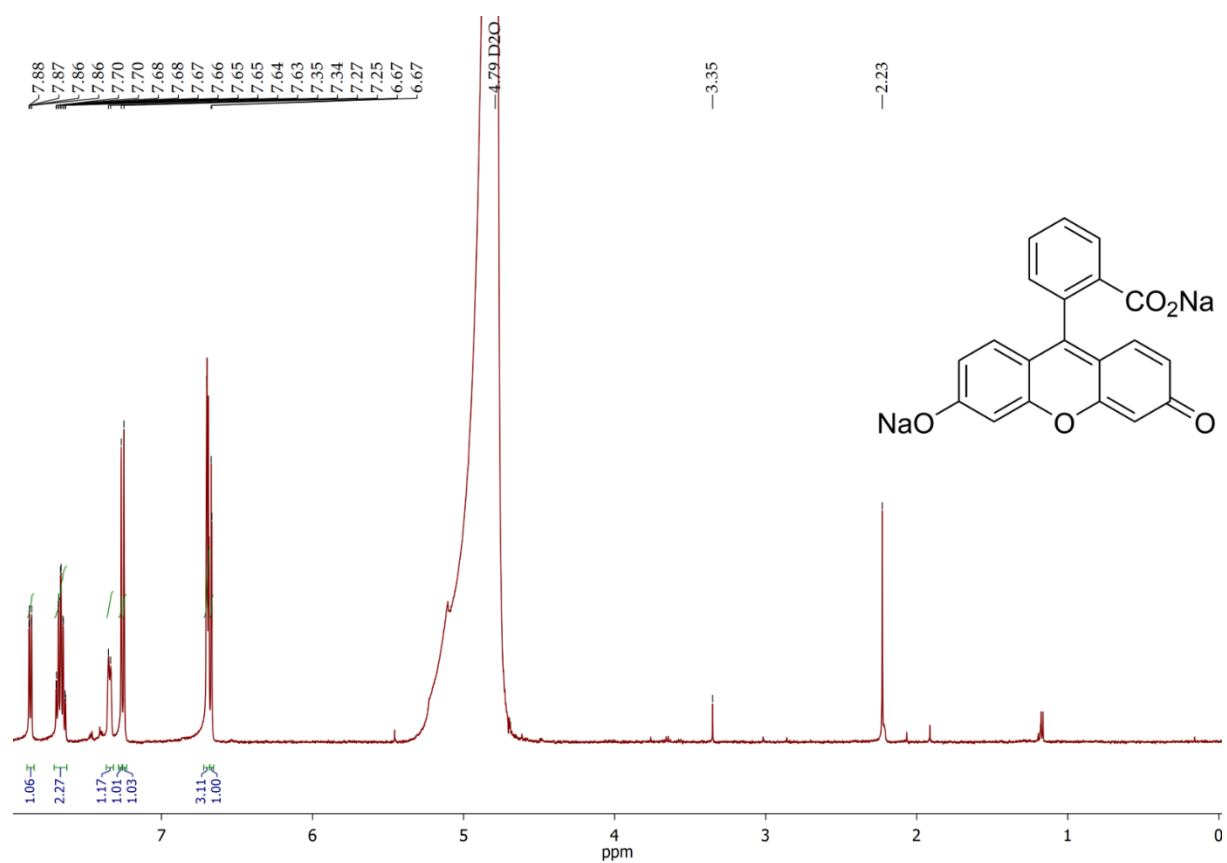


Figura A6 - Espetro de ^1H RMN do corante Fluoresceína (500 MHz, D_2O)

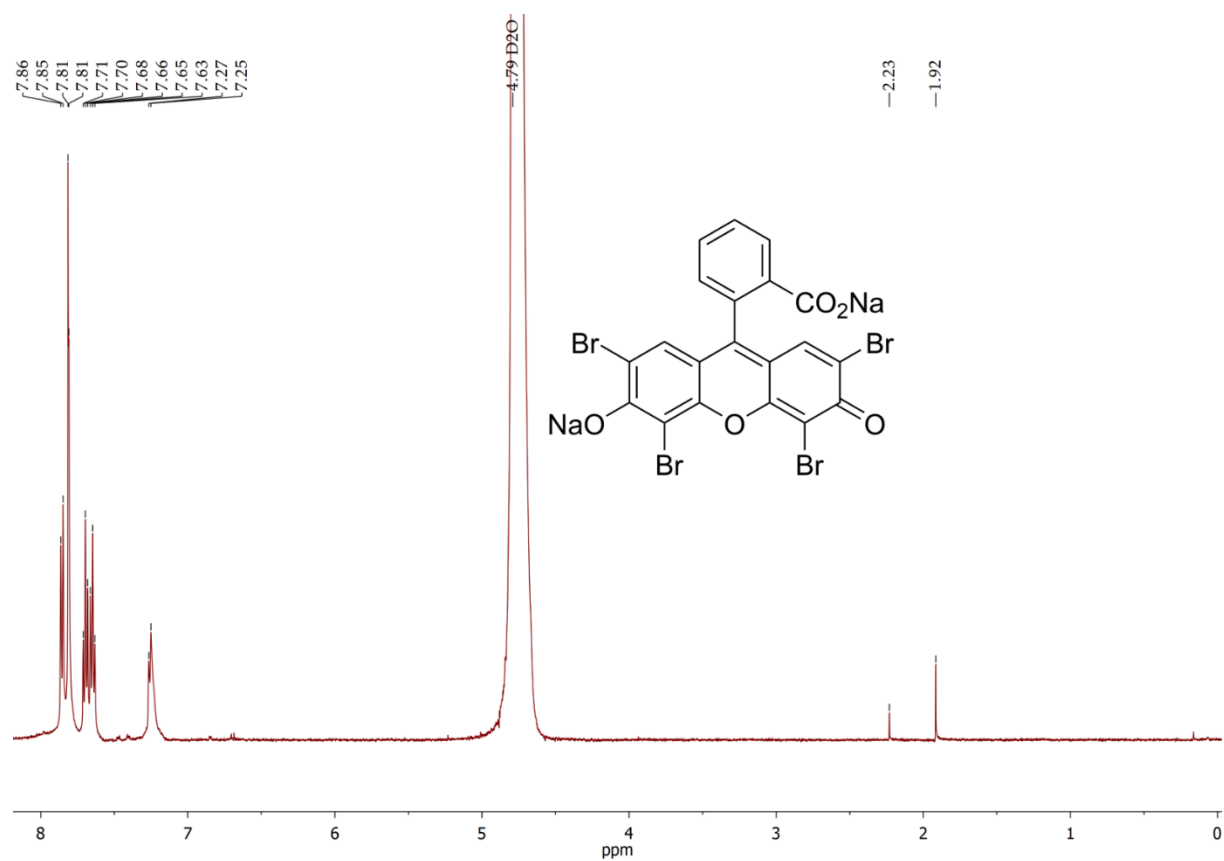


Figura A7 - Espetro de ^1H RMN do corante Eosina Y (500 MHz, D_2O)

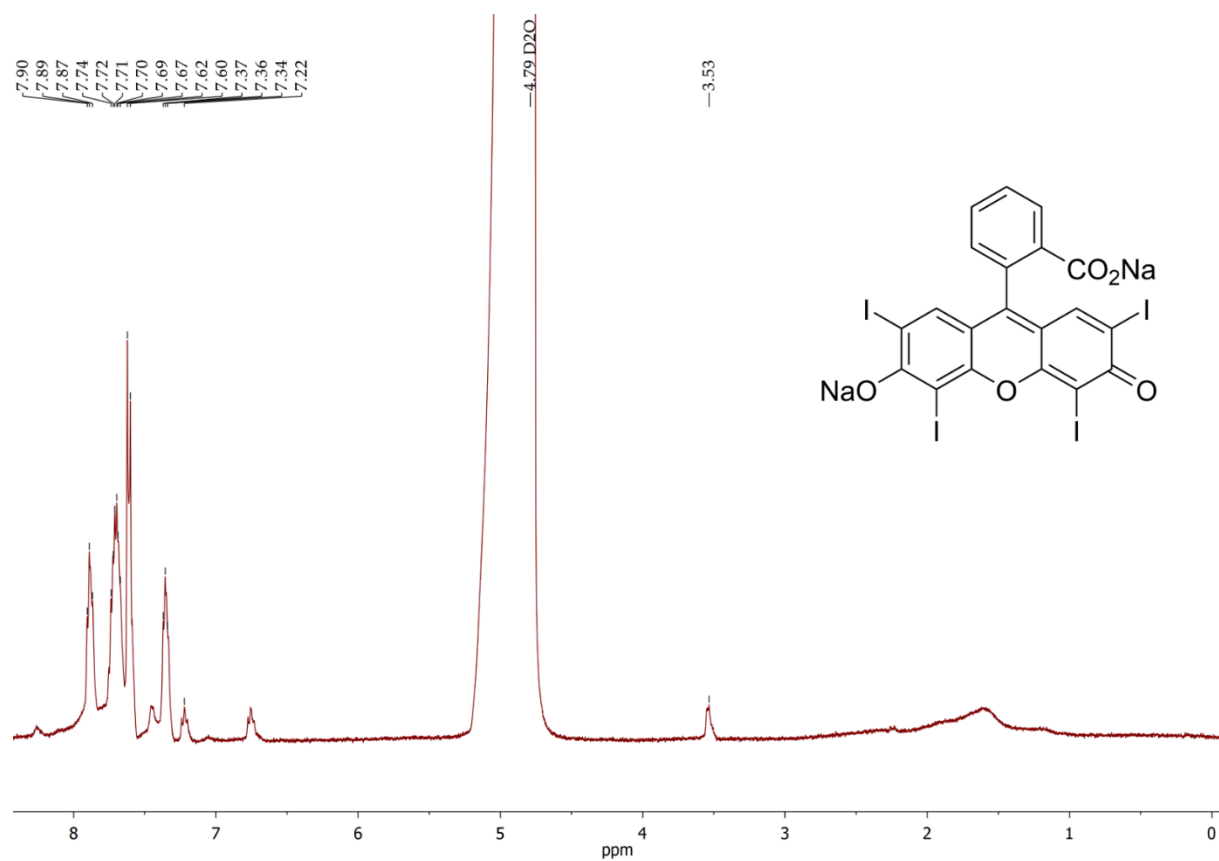


Figura A8 - Espetro de ^1H RMN do corante Eritrosina B (500 MHz, D_2O)

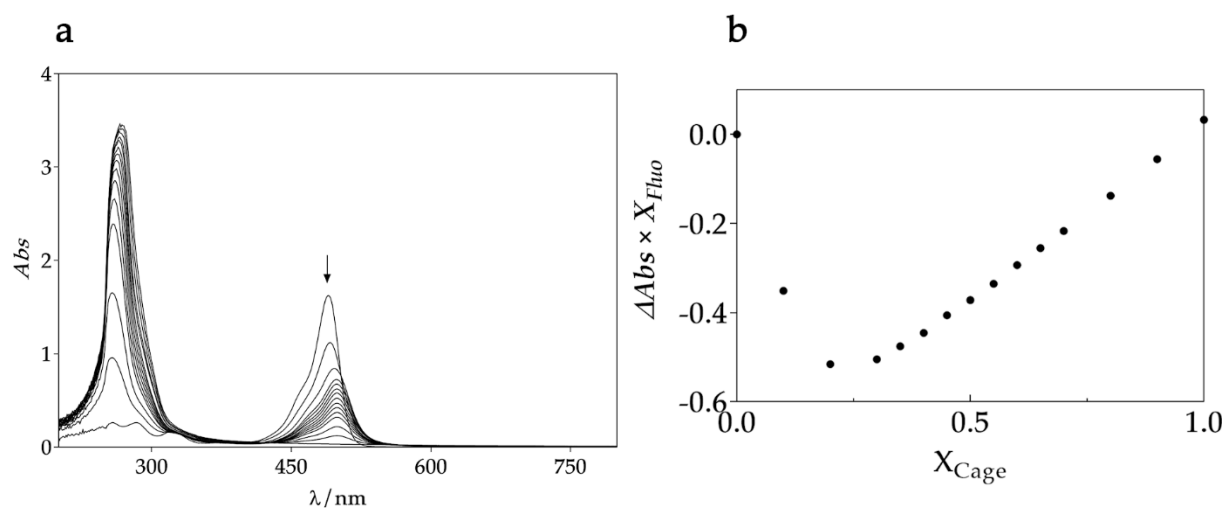


Figura A9 – (a) Job Plot seguida por UV-Vis do complexo de inclusão Cage Pd₆L₄ (0,3 μM): Fluoresceína (0,3 μM). (b) Estequiometria obtida através da Job Plot